
UT AUSTIN - GEN LIBS WAREHOUSE
01416911


SEAL OF THE UNIVERSITY OF TEXAS
PRAESIDIUM
DISCIPLINA
CIVITATIS


ROOM USE ONLY

18

ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

PARIS. — L. MARETHEUX, IMPRIMEUR, 1, RUE CASSETTE.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

TOME VINGT-NEUVIÈME
1915

AVEC 11 PLANCHES

PARIS
MASSON ET C[ie], ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6e).

29e ANNÉE — JANVIER 1915 — N° 1

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

LES LEISHMANIOSES CHEZ LES ANIMAUX

par A. LAVERAN

III. — INFECTIONS EXPÉRIMENTALES PRODUITES CHEZ DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES PAR LA LEISHMANIA DONOVANI (1)

On a admis, pendant plusieurs années, qu'un des principaux caractères différentiels du kala-azar méditerranéen et du kala-azar indien était fourni par ce fait que la première de ces maladies était inoculable à certains animaux, notamment au singe et au chien, qui se montraient réfractaires à la deuxième. Cette opinion n'est plus soutenable aujourd'hui. Il est démontré que la *L. Donovani*, agent du kala-azar indien, est inoculable, comme la *L. infantum*, agent du kala-azar méditerranéen, à certaines espèces animales. Nous aurons à voir si les conditions d'inoculation et les maladies expérimentales provoquées par les deux virus sont identiques ou non.

Une autre différence, très intéressante au point de vue spécial qui nous occupe, subsiste entre le kala-azar méditerranéen et le kala-azar indien. On a vu, dans la première partie de ce travail, que la leishmaniose canine naturelle a été observée à

(1) Voir, pour les premières parties du travail, ces *Annales*, t. XXVIII, p. 823 et p. 885.

l'état enzootique dans tous les pays où le kala-azar méditerranéen est endémique et que vraisemblablement l'agent du kala-azar chez l'homme et chez le chien est le même ; or les recherches poursuivies dans l'Inde pour y découvrir des foyers de leishmaniose canine ont été infructueuses jusqu'ici.

Donovan a examiné à Madras, du mois de mai au mois d'août 1909, 1.150 chiens au point de vue de la présence dans leur rate de la *L. Donovani* ; 256 de ces chiens provenaient du quartier de Madras dans lequel l'endémie de leishmaniose est la plus forte, et cependant l'existence des parasites n'a été notée dans aucun cas (1).

Des recherches ultérieures de Donovan et de Patton ont abouti également à des résultats négatifs ; sur plus de 2.000 chiens tués à la fourrière de Madras, on n'a constaté aucun cas de leishmaniose (2).

Mackie rapporte que 93 chiens ont été tués dans les villages du Nowgong (Inde) où le kala-azar régnait avec intensité dans les maisons où il y avait des malades, et que la rate et la moelle osseuse de ces chiens ont été examinées avec résultat négatif, au point de vue de l'existence des *Leishmania* ; la moelle osseuse d'un certain nombre de chiens a été inoculée, également avec résultat négatif, à 2 singes, à 2 *Pteropus Edwardsi* et à un chien (3).

Korke, qui a examiné un grand nombre de frottis de moelle osseuse et de rate de chiens dans l'Inde aurait vu, dans 4 cas, des éléments ayant une grande ressemblance avec des *Leishmania* (4).

Castellani a observé, à Colombo (Ceylan), quelques cas de leishmaniose canine naturelle, mais, comme beaucoup de chiens de Colombo sont importés, il n'a pas conclu de ces faits à l'existence de la maladie à Ceylan (5).

Bahr a recherché, sans succès, le kala-azar chez les indigènes

(1) C. Donovan, *Lancet*, 20 novembre 1909.

(2) C. Donovan, W.-S. Patton, *Proc. of the third meeting of the gen. malaria Committee held at Madras*, novembre 1912, Simla, 1913.

(3) F.-P Mackie, *Indian Jl. of med. Research*, avril 1914, p. 654.

(4) Sir Pardey Lukis, *All' India sanitary Conference Lucknow*, janvier 1914. Supplem. au *Indian Jl. of med. Research*, Calcutta, 1914.

(5) A. Castellani et A.-J. Chalmers, *Manual of trop. Medicine*, 2e édit., 1913. p. 363.

de Ceylan; il pense que la leishmaniose canine ne se rencontre pas non plus dans cette région (1).

Le kala-azar indien a été inoculé avec succès au chien, au chacal, aux macaques, au *Petropus Edwardsi* (chauve-souris), à la souris et au rat.

Les procédés d'inoculation sont les mêmes que pour le kala-azar méditerranéen; il est nécessaire d'employer de fortes doses du virus; c'est probablement parce que Donovan et Patton avaient inoculé à leurs animaux de trop faibles doses que leurs premiers essais ont été négatifs (2).

Chien. Chacal. — En 1912, Donovan a annoncé qu'il avait réussi à infecter un jeune chien en lui inoculant une forte quantité (3 c. c. 1/2) du sang splénique d'un sujet arrivé à la période terminale du kala-azar. A l'autopsie du chien, on ne trouva de *Leishmania* ni dans la rate, ni dans le foie, mais les parasites étaient nombreux dans la moelle osseuse (3). Il est à remarquer que chez 2 chiens inoculés antérieurement par Donovan, et chez les chiens examinés à Madras au point de vue de la leishmaniose naturelle, l'examen histologique de la moelle osseuse, siège d'élection des *Leishmania*, n'avait pas été fait.

En même temps que Donovan, Patton a réussi à inoculer au chien le kala-azar indien. Sur 8 chiens inoculés avec de fortes quantités du produit du broyage de la rate de malades morts du kala-azar depuis quelques heures, 4 se sont infectés; 3 chiens ont eu de fortes infections; chez l'un d'eux, l'infection sanguine était remarquable; trois jours avant la mort on compta plus de 500 *Leishmania* dans un frottis de sang, un seul polynucléaire en renfermait 12; deux jours avant la mort, on compta jusqu'à 1.000 parasites dans un frottis du sang périphérique (4).

Patton a profité de ce cas remarquable d'infection sanguine

(1) P.-H. Bahr, *Transact. of the Soc. of trop. med. a. hyg.*, janvier 1914, t. VII, p. 114.

(2) W.-S. Patton, *Parasitology*, décembre 1908 et mars 1909, *Transact. of the Soc. of trop. med. a. hyg.*, février 1909 et *Lancet*, 30 janvier 1909.

(3) C. Donovan, *Proceed. of the third meeting of the gen. malaria Committee held at Madras*, novembre 1912, Simla, 1913 et *The indian Jl. of. med. Research*, juillet 1913, t. I, n° 1.

(4) W.-S. Patton, mêmes indications que pour les travaux de Donovan mentionnés ci-dessus.

TxU

pour faire une expérience très intéressante au point de vue du rôle des puces dans la transmission de la maladie (1).

Plusieurs centaines de puces, *Ct. felis* (2), furent nourries sur le chien, quatre jours avant sa mort, et le contenu du tube digestif de plus de 200 de ces puces fut examiné. Patton résume comme il suit les résultats de l'expérience. Deux heures après l'ingestion du sang par les puces, on trouve dans l'intestin moyen, et dans les fèces de ces insectes, des *Leishmania* incluses dans des leucocytes. Beaucoup de parasites paraissent être déjà en voie de dégénérescence. Quatre heures après, les leucocytes sont dégénérés et les parasites devenus libres ne montrent aucun signe de développement; au contraire, ils deviennent granuleux. Six heures après, il y a une diminution marquée du nombre des parasites, et ceux qui existent encore sont fortement altérés. Un petit nombre de parasites se colorant faiblement sont trouvés dans la partie terminale du tube digestif. Huit heures après, il est très difficile de trouver un seul parasite, et chez toutes les puces examinées à des époques plus éloignées on n'en trouve plus aucun.

Ces faits, qui sont en contradiction avec ceux relatés par Basile (3), tendraient à prouver que la *L. Donovani* ne peut pas se développer chez *Ct. felis*, et par suite que cet insecte ne joue aucun rôle dans la propagation du kala-azar; il est vrai de dire que Basile a expérimenté sur *L. infantum* et non sur *L. Donovani* et *Ct. canis*.

Un chacal (sur 4 inoculés) présenta une forte infection.

Patton insiste avec raison sur ce fait que, pour obtenir de bons résultats dans les inoculations du kala-azar aux animaux, il faut employer de fortes doses de virus.

Wenyon, à Londres, a infecté un chien avec la pulpe de la rate d'un Indien mort de kala-azar à l'hôpital Albertdock (4).

Grâce à l'obligeance du D[r] Row, de Bombay, j'ai pu entreprendre à Paris des expériences sur différents animaux avec la *L. Donovani* (5).

(1) W.-S. Patton, *Indian Jl. med. Research*, juillet 1914.
(2) A Madras, la puce du chien est *Ct. felis* (Bouché).
(3) V. première partie de ce travail, *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. XXVIII, p. 831.
(4) C.-M. Wenyon, *Transact. of the Soc. of trop. med. a. hyg.*, janvier 1914.
(5) A. Laveran, *Acad. des Sciences*, 17 novembre 1913 et 14 avril 1914.

Le 2 mai 1913, j'ai reçu un tube de culture qui avait été ensemencé par le D[r] Row, à Bombay, le 29 mars précédent, avec une culture de *L. Donovani* ayant subi une série de passages, depuis le mois de décembre 1912; le tube contenait encore quelques flagellés mobiles qui, repiqués sur milieu de Novy simplifié, donnèrent de belles cultures; ce sont ces cultures qui ont été utilisées pour mes expériences.

On s'accorde à reconnaître qu'il est plus difficile d'infecter des animaux avec les cultures de *Leishmania* qu'avec le produit du broyage de la rate ou de la moelle osseuse d'hommes ou d'animaux morts du kala-azar; néanmoins, mes expériences sur les chiens, et surtout sur les singes, ont souvent donné des résultats positifs.

Sur 12 chiens inoculés uniquement avec des cultures de la *L. Donovani* dans le foie ou dans les veines, 5 se sont infectés (Obs. 1 à 5); les chiens 1, 2 et 3 n'ont reçu, dans les veines ou dans le foie, que 2 cent. cubes de culture, le chien 4 a reçu, dans le foie, 3 cent. cubes de culture. A la vérité, les infections ont été légères, mais j'avais choisi comme étant plus sensibles au virus des chiens très jeunes, et plusieurs d'entre eux ont succombé à des broncho-pneumonies, trop rapidement après l'inoculation pour laisser au kala-azar le temps d'évoluer.

Les formes légères, latentes, sont communes dans les infections du chien dues à la *L. Donovani*, comme dans celles que produit la *L. infantum*, si bien que, sur le cadavre, pour reconnaître l'existence de la maladie, il est parfois nécessaire de faire des ensemencements de la moelle osseuse ou de la rate.

Il est à noter que 2 chiens (Obs. 1 et 5) ont présenté de l'opacité des cornées, passagère dans un cas (1), permanente dans l'autre; on a vu dans la deuxième partie de ce travail que ce symptôme avait été noté également chez des chiens infectés avec la *L. infantum*.

Sur 3 chiens inoculés à la fois avec des cultures et avec le produit du broyage de la rate et du foie d'un macaque fortement infecté de kala-azar indien, 2 se sont infectés et chez un

(1) A. Laveran, *Soc. de path. exotique*, 9 juillet 1913. Présentation du chien qui fait l'objet de l'observation 1 du présent travail.

de ces animaux l'infection a été de moyenne intensité (*Leishmania* non rares dans la rate, très rares dans le foie).

Comme dans les infections produites chez le chien par la *L. infantum*, c'est dans la moelle osseuse qu'on a le plus de chances de trouver les *Leishmania* quand il s'agit d'infections légères; l'observation 7 fait toutefois exception à la règle.

Je résume les 7 observations.

1° Un jeune chien, pesant 4 kilogr. 480, reçoit le 10 juin 1913, dans l'une des veines saphènes, 2 cent. cubes d'une culture très belle de *Leishmania Donovani*. — 8 juillet, le chien pèse 4 kilogr. 500; on constate que la cornée du côté gauche s'est opacifiée; la cornée était en très bon état lors de l'arrivée du chien au chenil; elle a dû s'opacifier rapidement, car le chien est souvent examiné. — 13 juillet, la partie externe de la cornée gauche est redevenue transparente. — 16 juillet, l'opacité de la cornée a encore diminué, elle n'occupe plus que le quart interne environ. — 18 juillet, le chien maigrit, il ne pèse plus que 4 kilogr. 100.

Mort le 19 juillet. Le tissu conjonctif a une teinte ictérique très marquée; les urines donnent la réaction de Gmelin. La rate pèse 6 gr. 50. Foie d'aspect normal. Ganglions mésentériques augmentés de volume. Petites ecchymoses sous-pleurales, broncho-pneumonie bien caractérisée qui, certainement, a été la cause de la mort. Rien d'anormal au cœur. Dans les frottis de moelle osseuse, on trouve des *Leishmania* très rares. L'examen des frottis du foie et de la rate est négatif.

2° Un chien âgé de 45 jours, pesant 840 grammes, reçoit, le 30 juin 1913, dans le foie, 2 cent. cubes d'une belle culture de la *L. Donovani*. — 12 juillet, le chien pèse 920 grammes. — Les jours suivants le chien présente les symptômes de la maladie des jeunes chiens et il meurt le 21 juillet.

Le chien pèse 860 grammes; la rate pèse 2 gr. 30. Foie pâle, d'aspect graisseux. Les autres viscères ne présentent pas d'altération macroscopique notable. Dans les frottis de moelle osseuse et de rate, on trouve des *Leishmania* très rares; l'examen d'un frottis du foie est négatif.

3° Un chien âgé de 1 mois environ, pesant 1 kilogr. 080, reçoit le 25 juillet 1913, 2 cent. cubes de culture très belle de *L. Donovani*, moitié dans le foie, et moitié dans une des veines saphènes. Le chien pèse 1 kilogr. 500 le 10 août, 2 kilogr. 100 le 31 août, 2 kilogr. 250 le 23 septembre, 3 kilogr. 450 le 25 octobre. — Le 28 octobre, le chien a des convulsions, il respire difficilement, et présente de la parésie du train postérieur; il s'agit probablement de la maladie des jeunes chiens.

Le chien est sacrifié le 29 octobre 1913; il pèse 3 kilogr. 470. La rate, d'aspect normal, pèse 10 grammes. Les autres viscères ne présentent pas de lésions macroscopiques. Dans les frottis de moelle osseuse, on trouve des *Leishmania* très rares. L'examen des frottis de rate et de foie est négatif. Deux tubes du milieu de Novy simplifié sont ensemencés avec la moelle osseuse; à la date du 19 novembre, on constate une belle culture de flagellés dans un des tubes, l'autre tube est resté stérile.

4° Un chien, âgé de 40 jours, du poids de 1 kilogr. 300, reçoit le 4 août 1913, dans le foie, 1 cent. cube d'une culture très riche de *L. Donovani*. — 10 août, le chien, qui pèse 1 kilogr. 400, est inoculé une deuxième fois ; il reçoit, dans le foie, 2 cent. cubes d'une culture très riche. — 31 août, le chien va très bien, il pèse 1 kilogr. 840. — 23 septembre, le chien pèse 2 kilogrammes; il ne paraît pas malade. — 25 septembre, le chien est pris brusquement de mouvements convulsifs, il reste couché sur le côté gauche ; quand on le place sur le côté droit, il se retourne de l'autre côté.

Le chien est sacrifié le 25 septembre. La rate pèse 7 grammes. Le foie, les reins, le tube digestif, le cœur, les poumons ne présentent rien d'anormal. Les méninges cérébrales sont vivement injectées du côté gauche.

Les frottis de moelle osseuse montrent quelques *Leishmania*; les frottis de rate et de foie n'en montrent pas. Deux tubes du milieu de Novy simplifié, ensemencés avec la moelle osseuse, donnent de belles cultures de flagellés caractéristiques.

5° Une jeune chienne pesant 6 kilogr. 700 reçoit, les 24 et 26 novembre et le 6 décembre 1913, des injections intraveineuses de cultures très belles de *L. Donovani*. — 9 décembre, on constate que la cornée gauche est trouble. — 10 décembre, la cornée gauche est presque complètement opaque ; conjonctivite double. — 13 décembre, la conjonctivite va bien, mais la cornée droite s'est opacifiée à son tour. Le chien y voit encore un peu. Amaigrissement, poids : 5 kilogr. 700. — 15 décembre, les cornées redeviennent transparentes. — 20 décembre, le chien ne pèse plus que 5 kilogr. 200 ; l'opacité des cornées augmente de nouveau.

Le chien qui paraît très malade est sacrifié le 21 décembre 1913 ; il pèse 4 kilogr. 750. La rate pèse 11 grammes. Les autres viscères ne présentent aucune altération macroscopique. Dans les frottis de la moelle osseuse on trouve des *Leishmania* très rares. Les examens des frottis du foie et de la rate sont négatifs.

6° Un chien âgé de 3 semaines environ, pesant 700 grammes, reçoit dans le foie, le 19 juillet et le 31 août 1913, des injections de cultures très belles de *L. Donovani*, 2 cent. cubes environ à chaque injection. — Au mois de novembre 1913, le chien est en très bon état, il pèse 4 kilogrammes. — Le 8 novembre, on inocule dans le foie le produit du broyage de la rate et du foie d'un singe infecté de kala-azar indien. — Le chien continue à augmenter de poids ; il pèse, le 9 janvier 1914, 7 kilogrammes ; le 27 février, 8 kilogrammes. Trouvé mort le 3 mars 1914.

Le chien pèse 6 kilogr. 900; la rate pèse 6 grammes. Les viscères ne présentent pas d'altérations pouvant expliquer la mort qui est due sans doute à la maladie des jeunes chiens. Les urines sont albumineuses. *Leishmania* très rares dans les frottis de rate et de moelle osseuse. L'examen d'un frottis du foie est négatif.

7° Un jeune chien pesant 6 kilogr. 500 reçoit, le 12 décembre 1913, dans le foie, une injection de 4 cent. cubes du produit du broyage de la rate et du foie d'un singe fortement infecté de kala-azar indien; le produit du broyage a été dilué dans un peu d'eau physiologique. Le chien reçoit en outre, les 22 et 30 décembre 1913, deux injections intraveineuses de très belles cultures de la *L. Donovani*; chaque injection est de 2 cent. cubes. Le chien pèse, le 30 décembre, 7 kilogr. 250; le 27 février 1914, 8 kilogrammes; le 16 mars,

8 kilogr. 100 ; le 14 avril, 8 kilogr. 200; le 19 juin, 9 kilogr. 200; le 2 août, 8 kilogr. 300. Le chien est sacrifié en bon état le 2 août 1914.

La rate pèse 17 grammes, sa consistance est normale. Les autres viscères abdominaux ou thoraciques ne présentent pas d'altérations macroscopiques. La moelle des os est rouge, diffluente. *Leishmania* non rares dans les frottis de la rate, très rares dans les frottis du foie; l'examen d'un frottis de moelle osseuse est négatif.

Singes. — Le *Macacus sinicus* s'infecte facilement quand on lui inocule le virus du kala-azar indien ; le *M. sinicus* de la



La figure reproduit la photographie du *M. sinicus* inoculé par Row avec une culture de la *L. Donovani*. On distingue un bouton formant une forte saillie de chaque côté du front. Je dois la photographie reproduite ici à l'obligeance du Dr Row.

petite variété des environs de Madras est, d'après Row, plus sensible que le *M. sinicus* de la grande variété de Bombay; on peut obtenir aussi des résultats satisfaisants avec le *M. cynomolgus*.

D'après les recherches de R. Row, les inoculations de la *L. Donovani* au *M. sinicus* donnent lieu tantôt à des infections localisées, tantôt à des infections généralisées (1).

Deux *M. sinicus* ont été inoculés au front par Row, l'un dans

(1) R. Row, *Brit. med. Assoc.*, Liverpool, juillet 1912; *Jl. tropical med. a hyg.*, 1er novembre 1912 et 1er janvier 1913; *Indian Jl. of med. Research*, avril 1914.

la peau scarifiée avec, pour virus, la pulpe de rate d'un homme mort du kala-azar, l'autre par injection sous-cutanée d'une culture de 5e passage du même virus humain.

Chez le premier macaque on a vu apparaître, après une incubation de 3 mois 1/2 à 5 mois, 3 nodules cutanés qui se sont développés aux points d'inoculation et on a trouvé des *Leishmania*, en petit nombre, dans ces nodules qui avaient la structure de jeunes fibromes. L'infection locale n'a pas été suivie chez le singe d'une infection générale.

Chez le second macaque (inoculé avec la culture) on vit se développer au bout de 5 mois un nodule de chaque côté du front (fig. ci-contre), aux points d'inoculation, avec des *Leishmania* non rares. Le singe a guéri et n'a pas présenté d'infection générale.

Un troisième macaque, inoculé avec le virus d'un des nodules du premier singe, a eu également une infection localisée (nodule cutané).

Un des nodules du deuxième singe a été excisé une quinzaine de jours après son apparition et une de ses moitiés, broyée dans 1 cent. cube d'eau salée à 6 p. 100, a servi à inoculer, dans le péritoine, 2 souris et un *M. sinicus*. Ces 3 animaux ont eu des infections générales, sans lésion locale, avec nombreuses *Leishmania* dans les organes; chez le singe, on a trouvé des *Leishmania* dans le foie 5 mois après l'inoculation; chez les souris, au bout de 6 semaines.

Les meilleurs résultats (lésions localisées et généralisées) ont été obtenus par Row chez le *M. sinicus* (petite variété de Madras) avec des cultures vieilles contenant principalement des éléments arrondis en *cocci*. L'injection intrapéritonéale des cultures, si elle est suivie de succès, produit toujours l'infection généralisée, l'injection sous-cutanée produit tantôt une lésion localisée (nodule), tantôt une infection généralisée.

Les cultures deviennent de moins en moins actives à mesure que le nombre des repiquages augmente, mais on peut maintenir leur virulence en les renouvelant sur les animaux infectés.

Ces expériences de Row ont un double intérêt; elles montrent : 1° qu'on peut provoquer chez le *M. sinicus* des infections généralisées avec la *L. Donovani*, comme avec la *L. infantum*; 2° qu'avec la *L. Donovani* on peut obtenir, chez le même animal, des lésions cutanées (non suivies d'infection générale) qui ont

une grande ressemblance avec les lésions expérimentales de la *L. tropica*; nous aurons l'occasion de revenir sur ce point dans une autre partie de ce travail.

Sur 11 *Macacus sinicus* inoculés par Patton avec la pulpe splénique de malades morts de kala-azar depuis quelques heures, 4 se sont infectés; 3 ont présenté une forte infection (1).

Les singes qui avaient reçu de très fortes doses de pulpe splénique se sont seuls infectés; ils ont eu des infections généralisées.

Korke a répété avec succès, aux Indes, les expériences de Row sur les singes (2). Le 11 janvier 1913, à Bombay, dans le laboratoire de Row, 2 *M. sinicus* ont été inoculés, l'un dans le péritoine, l'autre sous la peau, avec le produit de la ponction du foie d'un singe infecté de kala-azar. Korke a emporté ces deux singes à Madras, en même temps qu'un macaque qui, inoculé par Row dans la peau, présentait un nodule cutané riche en *Leishmania*.

Le *M. sinicus* inoculé, à Bombay, dans le péritoine, ne montrant pas de signes d'infection, est réinoculé le 2 septembre 1913, sous la peau, des deux côtés du front, avec la moelle osseuse d'un sujet mort de kala-azar. Treize jours après l'inoculation, des nodules apparaissent aux points d'inoculation et, dans ces nodules, on trouve des *Leishmania*.

Le singe inoculé le 11 janvier 1913, à Bombay, sous la peau, ne présentant pas de signes d'infection, est réinoculé sous la peau, à Madras, avec le sang d'un sujet ayant des *Leishmania* non rares dans le sang; pas de nodules aux points d'inoculation, mais, à l'autopsie, *Leishmania* dans la rate et la moelle osseuse; donc infection généralisée après inoculations sous-cutanées.

Le troisième singe provenant de Bombay et porteur d'un nodule a montré, à l'autopsie, des *Leishmania* dans le nodule, dans la rate et dans la moelle osseuse; il y a donc eu, dans ce cas, infection locale et infection générale, probablement consé-

(1) W.-S. Patton, *Proceed. of third meeting of the gen. malaria Committee held at Madras*, novembre 1912, Simla, 1913. Je tiens compte des expériences additionnelles.

(2) Vishnu T. Korke, *Third All' India sanitary Conference*, Lucknow, janvier 1914 et *Indian Jl. of med. Research*, avril 1914.

cutive, car les *Leishmania* étaient rares dans la rate et dans la moelle osseuse.

Korke cite encore les faits suivants : un *M. sinicus* inoculé le 26 mai 1913, des deux côtés du front, avec la moelle osseuse d'un sujet mort du kala-azar, à Madras, a, au mois d'août, des nodules aux points d'inoculation et, dans ces nodules, on trouve des *Leishmania*. Chez 2 *M. sinicus*, les résultats de l'inoculation sous-cutanée au moyen de sang ou de pulpe de rate de sujets atteints de kala-azar ont été négatifs.

Sur 5 *M. rhesus*, inoculés dans le péritoine, Mackie note deux succès ; un essai d'infection par ingestion qui a porté sur 2 singes a échoué (1).

J'ai dit plus haut, à propos des infections expérimentales du chien, comment j'avais réussi à instituer des recherches sur la virulence de la *L. Donovani* pour différentes espèces animales.

Mes expériences sur les singes ont porté sur 7 *M. sinicus* et sur 9 *M. cynomolgus*.

3 *M. sinicus* inoculés dans le foie avec le produit du broyage des viscères d'animaux infectés de kala-azar se sont infectés, et chez 2 d'entre eux l'infection a été forte.

4 *M. sinicus* inoculés dans le foie avec des cultures de la *L. Donovani* se sont infectés, et 2 d'entre eux ont eu des infections fortes.

7 *M. sinicus* inoculés se sont donc tous infectés et, chez 4 d'entre eux, l'infection a été forte.

De 3 *M. cynomolgus* inoculés dans le foie, avec le produit du broyage des viscères d'animaux infectés de kala-azar, 2 se sont infectés, et l'un d'eux a eu une infection forte.

De 6 *M. cynomolgus* inoculés dans le foie avec des cultures de la *L. Donovani*, 3 se sont infectés, et chez l'un d'eux l'infection a été forte.

De 9 *M. cynomolgus* inoculés, 5 se sont donc infectés, ce qui donne une proportion de succès moins forte que pour les *M. sinicus*, mais encore belle.

Les singes inoculés avec le produit du broyage de la rate et du foie de singes infectés ont reçu, dans le foie, 4 cent. cubes

(1) F.-P. Mackie, *Indian Jl. of med. Research,* avril 1914, p. 653.

de la pulpe des viscères délayée dans un peu d'eau physiologique.

Les singes inoculés avec les cultures ont reçu 4 à 8 cent. cubes de cultures, en deux ou trois injections, dans le foie.

J'ai injecté presque toujours des cultures jeunes, de quinze jours environ; j'ai essayé une fois comparativement, chez 2 *M. cynomolgus*, les cultures jeunes et les cultures vieilles. Un des singes, qui fait l'objet de l'observation 8, résumée plus loin, a reçu trois injections dans le foie de cultures de 15 jours, il a présenté une infection légère; l'autre singe a reçu, dans les mêmes conditions que le premier, et aux mêmes doses, trois injections de cultures de 30 jours, il ne s'est pas infecté.

L'infection donne lieu en général, chez les singes, à des symptômes plus apparents que chez les chiens. L'amaigrissement est le signe le plus constant avec l'hypertrophie de la rate qui peut être constatée facilement, sur le singe vivant, quand elle est bien marquée. A la dernière période, les singes s'anémient, ils n'ont plus la vivacité habituelle de leurs mouvements et restent blottis dans un coin de leur cage; ils perdent l'appétit et sont souvent pris de diarrhée.

Sur les 12 singes qui se sont infectés, 3 seulement sont morts de leishmaniose, 91 jours, 152 jours et 169 jours après l'inoculation; les autres singes sont morts de complications ou bien ils ont été sacrifiés à différentes périodes de l'infection.

La lésion la plus commune, constatée à l'autopsie chez les singes infectés, est l'hypertrophie de la rate. Chez 9 singes, d'un poids moyen de 1 kilogr. 250, infectés par la *L. Donovani*, le poids moyen de la rate a été de 7 gr. 23, notablement supérieur au poids normal qui, chez les singes de 1 kilogramme à 1 kilogr. 250 ne dépasse pas 2 à 3 grammes. Chez un singe de 1 kilogr. 500, la rate, fortement hypertrophiée, pesait 14 grammes (Obs. 3); chez un singe de 1 kilogr. 350, le poids de la rate était de 11 grammes (Obs. 4) et chez un singe de 950 grammes, de 10 gr. 50 (Obs. 10); dans d'autres cas, le poids de la rate s'éloignait peu du poids normal.

Sur 11 singes chez lesquels j'ai recherché les *Leishmania* dans la rate, le foie et la moelle osseuse, j'ai noté : parasites très nombreux ou nombreux dans la rate, le foie et la moelle osseuse, 4 fois; parasites assez nombreux dans la rate et la

moelle osseuse, rares dans le foie 1 fois; parasites assez nombreux dans la rate, rares dans le foie et la moelle osseuse, 1 fois; parasites rares dans la rate et la moelle osseuse, examen du foie négatif, 2 fois; parasites rares dans la rate, examens du foie et de la moelle osseuse négatifs 2 fois; enfin, dans un cas, les examens de la rate, du foie et de la moelle osseuse ont été négatifs, mais l'ensemencement de la moelle osseuse dans le milieu de Novy simplifié a donné des cultures de flagellés caractéristiques (Obs. 9).

Il ressort de cette étude que c'est dans la rate et ensuite dans la moelle osseuse que les *Leishmania* ont été trouvées le plus souvent et en plus grand nombre; le foie ne vient qu'en troisième ligne.

Ce qui a été dit précédemment au sujet du diagnostic des infections produites par la *L. infantum* chez le singe s'applique exactement au diagnostic des infections dues à la *L. Donovani*. Lorsqu'un singe qui a été inoculé avec le virus du kala-azar indien maigrit, et que sa rate présente une hypertrophie manifeste, on peut en conclure avec toutes probabilités qu'il s'est infecté. Mais ces signes ne sont pas constants et, alors même qu'ils existent, il faut, pour confirmer le diagnostic, procéder à la recherche des *Leishmania*. La ponction du foie ne donne de bons résultats que lorsqu'il s'agit d'infections très fortes, avec de nombreux parasites dans le foie. L'examen direct du sang permet quelquefois de constater l'existence des *Leishmania*. L'ensemencement du sang constitue un bon procédé de diagnostic. J'ai procédé 2 fois à cet ensemencement avec le sang du cœur, chez des singes qui venaient d'être sacrifiés, et en ensemençant chaque fois 2 tubes avec 10 gouttes de sang j'ai obtenu dans les deux cas de belles cultures de flagellés (Obs. 4 et 10); cependant, dans un de ces cas, il s'agissait d'une infection légère avec parasites rares, dans la rate seulement. Sur le cadavre, lorsque l'examen des frottis de la rate, du foie et de la moelle osseuse est négatif, ou ne révèle que l'existence de *Leishmania* très rares, parfois assez mal caractérisées, il est indiqué de faire des ensemencements de moelle osseuse sur le milieu de Novy simplifié, comme cela a été fait chez les singes qui font l'objet des observations 1, 8 et 9.

Des singes sacrifiés en bon état, plusieurs mois après l'ino-

culation, ont été notés comme ayant des infections légères qui paraissaient en voie de guérison. Il ne paraît donc pas douteux que les infections du singe par la *L. Donovani* peuvent, comme les infections dues à la *L. infantum*, se terminer par guérison.

Je résume les observations de 7 *M. sinicus* et de 3 *M. cynomolgus* inoculés avec succès, dans mon laboratoire, avec le virus du kala-azar indien.

1° Un *Macacus sinicus*, du poids de 1 kilogr. 850, reçoit le 10 juin 1913, dans le foie, 4 cent. cubes d'une culture très riche de *L. Donovani*. — 30 juin, le singe a maigri, il ne pèse plus que 1 kilogr. 650. — 21 juillet, le singe a repris son poids primitif de 1 kilogr. 850. — 29 juillet, la rate est un peu augmentée de volume. Le singe reçoit encore, dans le foie, 2 cent. cubes d'une culture riche de *L. Donovani*. — 18 août, le singe a beaucoup maigri, il ne pèse plus que 1 kilogr. 480. — 30 août, l'amaigrissement continue, le singe est moins vif, il mange moins qu'à l'ordinaire, diarrhée.

Le singe est trouvé mort le 9 septembre, il ne pèse plus que 1 kilogr. 200. La rate pèse 2 kilogr. 30. Foie pâle. Petites ulcérations sur la muqueuse du côlon. Poumons pâles. Anémie et maigreur extrêmes.

Dans les frottis colorés de la moelle osseuse et de la rate, *Leishmania* très rares. On ne trouve pas de *Leishmania* dans les frottis du foie.

La moelle osseuse ensemencée, le 9 septembre, sur le milieu de Novy simplifié, donne, le 23 septembre, une belle culture de flagellés, bien caractérisés, qui est repiquée avec succès en série.

2° Un *M. sinicus*, du poids de 1 kilogr. 850, reçoit le 10 juin 1913, dans le foie, 4 cent. cubes d'une culture très riche de *L. Donovani*. — 30 juin, le singe a maigri, il pèse 1 kilogr. 710. — 28 juillet, l'amaigrissement s'accentue, le singe ne pèse plus que 1 kilogr. 550. — 18 août, poids : 1 kilogr. 500; injection, dans le foie, de 2 cent. cubes d'une culture très riche de *L. Donovani*. — 30 septembre, poids : 1 kilogr. 500; injection, dans le foie, de 2 cent. cubes d'une culture très riche de *L. Donovani*. — 5 novembre, le singe a encore un peu maigri, il ne pèse plus que 1 kilogr. 400; il est moins vif qu'à l'ordinaire; on le trouve presque toujours blotti dans un coin de sa cage; il mange peu. La rate est légèrement augmentée de volume.

Le singe est trouvé mort le 9 novembre. Il pèse 1 kilogr. 400. La rate pèse 7 grammes, elle est dure. Foie d'aspect normal. Reins pâles. Rien à noter du côté du cœur ni des poumons.

Dans les frottis de la rate, du foie et de la moelle osseuse, on trouve des *Leishmania* en grand nombre. Beaucoup de cellules du foie et de la moelle osseuse sont bourrées d'éléments parasitaires caractéristiques. Dans le foie, les *Leishmania* siègent principalement dans les cellules endothéliales des capillaires sanguins.

3° Un *M. sinicus*, du poids de 1 kilogr. 300, est inoculé à trois reprises, dans le foie, avec des cultures très riches de la *L. Donovani* de Bombay. Les inoculations sont faites les 26 juin, 12 juillet et 6 septembre 1913, chaque fois avec 2 cent. cubes du liquide de culture. Le singe ne maigrit pas, il pèse le

30 septembre 1 kilogr. 500; même poids le 14 novembre. Au mois de novembre, on note une anémie très marquée (décoloration des muqueuses).

Le singe est trouvé mort le 12 décembre 1913; il pèse 1 kilogr. 500. Le foie et la rate sont hypertrophiés; la rate pèse 14 grammes, sa consistance est très ferme. Reins, poumons très pâles (anémie). Moelle osseuse diffluente. Les *Leishmania* nombreuses dans les frottis de rate et de moelle osseuse sont assez nombreuses dans les frottis de foie.

4° Un *M. sinicus* pesant 1 kilogr. 100 reçoit à trois reprises les 5, 17 et 29 janvier 1914, dans le foie, des injections de très belles cultures de la *L. Donovani*; on injecte chaque fois 2 cent. cubes environ de culture jeune (15 jours environ). Le singe pèse, le 6 février, 1 kilogr. 150; le 3 mars, 1 kilogr. 235; le 3 avril, 1 kilogr. 250; le 25 mai, 1 kilogr. 260; le 10 juin, 1 kilogr. 300. A partir du mois d'avril, on note une légère augmentation de volume de la rate. Le singe est sacrifié, en bon état, le 19 juin 1914.

Le singe pèse 1 kilogr. 350. La rate qui est augmentée de volume pèse 11 grammes; sa consistance est plus grande qu'à l'état normal. Rien d'autre à noter à l'examen macroscopique.

L'examen histologique des frottis de rate révèle l'existence de *Leishmania* rares. L'examen des frottis du foie et de la moelle osseuse est négatif.

Deux tubes du milieu de culture de Novy simplifié sont ensemencés le 19 juin, chacun avec 10 gouttes du sang du cœur; le 7 août, on constate l'existence de flagellés caractéristiques dans les deux tubes; le sang du singe contenait donc des *Leishmania* bien que l'infection fût légère (peu avancée ou plutôt en voie de régression).

5° Un *M. sinicus* du poids de 1 kilogr. 150 est inoculé le 12 janvier 1914, dans le foie, avec une forte dose du produit du broyage de la rate et du foie du *M. cynomolgus* qui fait l'objet de l'observation 11. Le singe est trouvé mort le 3 février 1914; il a maigri, son poids n'est plus que de 920 grammes. La rate pèse 2 gr. 80. Le foie, les reins, le tube digestif ne présentent rien d'anormal. Foyers de pneumonie à droite. Péricarde, cœur à l'état normal. *Leishmania* typiques, non rares, dans les frottis de rate et de moelle osseuse, rares dans les frottis de foie.

Un tube du milieu de Novy simplifié, ensemencé le 3 février, avec la moelle osseuse, donne le 18 février une belle culture de flagellés.

6° Un *M. sinicus*, pesant 1 kilogr. 560, reçoit le 4 mars 1914, dans le foie. 4 cent. cubes du produit du broyage de la rate et du foie d'un singe fortement infecté de kala-azar indien; le produit du broyage est dilué dans un peu d'eau physiologique. — Le singe pèse, le 24 mars, 1 kilogr. 650; le 3 avril, 1 kilogr. 400; le 25 mai, 1 kilogr. 500. — Le 26 mai 1914, le macaque meurt à la suite d'un brusque refroidissement de la singerie.

La rate, légèrement hypertrophiée, pèse 8 grammes; sa consistance est augmentée. Les autres viscères ne présentent aucune altération macroscopique. On trouve des *Leishmania*, non rares, dans les frottis de la rate; très rares dans les frottis du foie et de la moelle osseuse. Un tube du milieu de Novy simplifié, ensemencé avec la moelle osseuse, donne à la date du 9 juin une très belle culture de formes flagellées de la *Leishmania*.

7° Un *M. sinicus* pesant 1 kilogr. 330 reçoit le 4 mars 1914, dans le foie, 4 cent. cubes de la bouillie fournie par le broyage de la rate et d'une portion

du foie d'un singe fortement infecté de kala-azar; le produit du broyage est mélangé à un peu d'eau physiologique. — Le singe pèse, le 24 mars, 1 kilogr. 300; le 25 mai, 1 kilogr. 250. Le 9 avril, on note une légère hypertrophie de la rate. — 26 mai, à la suite d'un brusque refroidissement de la singerie, le macaque est trouvé mourant, il meurt le 27 mai. La rate pèse 8 grammes; sa consistance est augmentée. Les autres viscères ne présentent pas d'altérations macroscopiques. *Leishmania* rares dans les frottis de la rate et de la moelle des os. L'examen des frottis du foie est négatif.

8° Un *M. cynomolgus* pesant 1 kilogr. 725 reçoit à trois reprises, les 28 février, 14 et 20 mars 1914, dans le foie, des injections de très belles cultures de la *L. Donovani*; on injecte chaque fois 2 cent. cubes environ de culture jeune. — Le singe pèse, le 24 mars, 1 kilogr. 700; le 14 avril, 1 kilogr. 760; le 25 mai, 1 kilogr. 770; le 20 juin, 1 kilogr. 800. Le singe est sacrifié en bon état le 4 juillet 1914.

Le singe pèse 1 kilogr. 980. Les viscères ne présentent rien d'anormal à l'examen macroscopique; la rate n'est pas hypertrophiée.

Dans les frottis de rate, on trouve des *Leishmania* très rares; l'examen histologique des frottis de foie et de moelle osseuse est négatif, mais deux tubes du milieu de Novy simplifié, ensemencés avec la moelle osseuse du singe, le 4 juillet, donnent de belles cultures de *Leishmania* à la date du 23 juillet.

9° Un *M. cynomolgus*, pesant 1 kilogr. 550, reçoit à deux reprises, dans le foie, les 29 mai et 4 juin 1914, des injections de très belles cultures de la *L. Donovani*; on injecte chaque fois 2 cent. cubes de culture de trois semaines. — 10 juin, le singe a maigri, il ne pèse plus que 1 kilogr. 350. — 13 juillet, le singe, toujours maladif, pèse 1 kilogr. 300. Mort le 27 juillet avec de la diarrhée.

Le singe pèse 1 kilogr. 260. La rate, petite, ne pèse que 1 gr. 50. Matières liquides dans toute la hauteur du tube digestif. Le foie, les reins et les viscères thoraciques ne présentent aucune altération apparente. L'examen histologique des frottis de rate, de foie et de moelle osseuse ne révèle l'existence d'aucune *Leishmania*, mais deux tubes du milieu de Novy simplifié ensemencés le 27 juillet avec la moelle osseuse donnent, à la date du 11 août, de belles cultures de *Leishmania*.

10° Un *M. cynomolgus* mâle, du poids de 1 kilogramme, reçoit à trois reprises, les 18 octobre, 12 novembre et 9 décembre 1913, dans le foie, de 1 à 2 c. c. 50 de cultures très belles de *L. Donovani*. — 10 décembre, le singe pèse 1 kilogr. 120, il ne paraît pas malade. — 13 janvier 1914, le poids est de 1 kilogr. 280. — 2 février, le singe a maigri, il ne pèse plus que 1 kilogr. 020. — 26 février, l'amaigrissement fait des progrès; le singe ne pèse plus que 950 grammes. Anémie marquée, muqueuses décolorées.

Le singe est sacrifié le 4 mars 1914. La rate, qui est hypertrophiée, pèse 10 gr. 50; sa consistance est augmentée. Foie gros. Reins normaux. Cœur normal. Poumons très pâles. Anémie très marquée. Moelle osseuse rougeâtre, semi-liquide. Dans les frottis colorés de la rate, du foie et de la moelle osseuse, on trouve de nombreuses *Leishmania*.

Deux tubes du milieu de Novy simplifié, ensemencés avec le sang du cœur (10 gouttes de sang dans chaque tube), donnent, au bout de quinze jours, de belles cultures de flagellés caractéristiques.

Etant donné, d'une part, que l'identité de *L. Donovani* et de *L. infantum* n'est pas encore complètement démontrée, et d'autre part, qu'une première atteinte de kala-azar méditerranéen donne au singe, comme au chien, une immunité solide contre cette maladie (1), il était indiqué de rechercher si un singe guéri d'une infection due au kala-azar méditerranéen pourrait être infecté à l'aide du kala-azar indien ; j'ai pu réaliser cette expérience, comme le prouvent les observations qui suivent.

11° Un *M. cynomolgus*, du poids de 1 kilogr. 200, est inoculé, le 8 novembre 1913, avec le produit du broyage du foie et de la rate d'un *M. sinicus* fortement infecté à la suite d'inoculations de cultures de la *L. Donovani* provenant de Bombay. Le singe maigrit à la suite de cette inoculation, il ne pèse plus le 10 décembre que 1 kilogramme.

Le singe est trouvé mort le 12 janvier 1914, il pèse 1 kilogramme. La rate et le foie sont légèrement augmentés de volume. Moelle osseuse rouge, fluide. Rien d'autre à noter. Dans les frottis de moelle osseuse, de rate et de foie, on trouve des *Leishmania* typiques, en grand nombre.

12° Un *M. cynomolgus*, femelle, du poids de 2 kilogr. 500, est inoculé le 24 avri 1909, avec le virus du kala-azar tunisien. Le 30 octobre 1909, l'animal est splénectomisé ; la rate pèse 19 grammes, elle contient des *Leishmania* rares, décelées par la culture. Le 23 août, la guenon qui est en très bon état est réinoculée, sans résultat, avec une très forte dose du virus tunisien. Le 8 août 1911, la guenon met bas un petit qui s'élève bien. Le 8 novembre 1913, la guenon est inoculée, dans le foie, avec le virus du kala-azar indien, dans les mêmes conditions que le *M. cynomolgus* qui fait l'objet de l'observation précédente. La guenon pèse 2 kilogr. 300 ; elle ne présente rien d'anormal à la suite de l'inoculation.

La guenon est sacrifiée en très bon état le 7 février 1914 ; elle pèse 2 kilogr. 280. La rate a été enlevée complètement. Il n'y a pas d'hypertrophie compensatrice des ganglions lymphatiques. On ne trouve de *Leishmania* ni dans les frottis de la moelle osseuse, ni dans ceux du foie. La moelle osseuse est ensemencée largement dans deux tubes du milieu de Novy simplifié, les deux tubes restent stériles.

Un *M. cynomolgus* ayant l'immunité pour le kala-azar méditerranéen s'est donc montré réfractaire au kala-azar indien, alors qu'un *M. cynomolgus*, inoculé dans les mêmes conditions que le premier et servant de témoin, contractait une infection rapidement mortelle (2) ; cette expérience fournit, ce

(1) C. Nicolle et C. Comte, *Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1910. 3e fasc., p. 103.

(2) A. Laveran, *Acad. des Sciences*. 14 avril 1914, *Comptes rendus*, t. CLVIII, p. 1060.

me semble, un puissant argument en faveur de l'identité des deux virus.

Pteropus Edwardsi. — Cette chauve-souris, qui est commune dans l'Inde, est désignée par les auteurs anglais sous le nom de *flying fox*; d'après Mackie, elle est assez sensible au kala-azar; sur 4 *Pteropus* inoculés par Mackie avec le virus du kala-azar indien, par voie intrapéritonéale, 2 se sont infectés et l'un d'eux a eu une infection généralisée (Mackie, *op. cit.*).

Souris. — On a vu plus haut que Row a réussi à infecter 2 souris blanches en leur inoculant, dans le péritoine, le virus fourni par le broyage dans l'eau physiologique d'une partie d'un nodule cutané d'un *M. sinicus*; le nodule du singe était survenu à la suite de l'inoculation d'une culture du virus humain du kala-azar indien. L'une des souris mourut 46 jours après l'inoculation, l'autre fut sacrifiée 49 jours après l'inoculation; chez les deux souris des *Leishmania* existaient, en grand nombre, dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse.

Une troisième souris, inoculée dans le péritoine avec une très petite quantité du suc fourni par le nodule cutané du même macaque, et sacrifiée au bout de 3 mois environ, était atteinte aussi d'une infection généralisée (1).

Row, ayant obtenu facilement des infections généralisées chez la souris blanche avec le virus fourni par un macaque, se flattait, avec raison, d'obtenir plus facilement encore des infections des souris à l'aide du virus fourni par les souris infectées; il n'en a rien été et il est arrivé (comme moi pour la *L. infantum*) à cette conclusion que la *L. Donovani* perdait une partie de sa virulence en passant par la souris. On verra dans une autre partie de ce travail que la virulence de la *L. tropica*, agent du bouton d'Orient, semble au contraire augmenter chez la souris.

Row a réussi également à infecter des souris blanches avec des cultures de la *L. Donovani*; les résultats de ses expériences se résument ainsi : les inoculations sous-cutanées de cultures ne produisent pas de lésions locales; après une longue période

(1) R. Row, *Jl. of trop. med. a. hyg.*, novembre 1912 et 1er janvier 1913.

d'incubation, on observe souvent des lésions généralisées; une souris sacrifiée 14 mois après l'inoculation avait une forte infection (rate, foie, moelle osseuse); les inoculations intrapéritonéales produisent plus rapidement l'infection généralisée. La période d'incubation (ou plutôt de latence) est de 5 mois 1/2 environ (1).

D'après Row, la souris grise (sauvage) serait réfractaire au kala-azar indien.

Sur 11 souris blanches inoculées par Mackie (*op. cit.*) dans le péritoine, 3 se sont infectées.

Sur 15 souris blanches inoculées par moi, 5 se sont infectées; elles avaient reçu toutes les 5, dans le péritoine, du virus provenant du broyage de la rate et du foie de singes infectés avec la *L. Donovani*; l'infection a été d'intensité moyenne dans 1 cas (Obs. 1), légère dans les autres cas.

3 souris inoculées dans le péritoine avec des cultures de la *L. Donovani*, de 15 jours environ, ne se sont pas infectées; 2 souris inoculées dans le péritoine avec des cultures vieilles de 4 mois ne renfermant plus que des formes arrondies, avec des flagellés très rares, ne se sont pas infectées non plus, comme on pouvait s'y attendre; je ne les fais pas entrer en ligne de compte.

Chez des souris sacrifiées 8 à 12 mois après l'inoculation, et chez lesquelles l'examen histologique des viscères et de la moelle osseuse ne révélait pas l'existence de *Leishmania*, la rate a été trouvée notablement hypertrophiée, ce qui paraît indiquer qu'il y avait eu infection et que les souris avaient été sacrifiées tardivement.

Je résume les observations des 5 souris blanches qui, inoculées avec le produit du broyage de la rate et du foie d'un singe atteint de kala-azar indien, se sont infectées.

1° Une souris adulte est inoculée à 2 reprises, dans le péritoine, aux mois de juin et juillet 1913 avec de très belles cultures de la *L. Donovani*. Le 8 novembre 1913, la souris qui est en très bon état est inoculée, dans le péritoine, avec le produit du broyage du foie et de la rate d'un singe infecté de kala-azar indien. — 29 décembre 1913, la souris est malade, il y a de la parésie du train postérieur.

La souris est sacrifiée le 29 décembre; elle pèse 23 grammes; la rate,

(1) R. Row, *Indian Jl. of med. Research*, avril 1914.

fortement hypertrophiée, pèse 25 centigrammes. On trouve des *Leishmania* non rares dans les frottis de la rate, rares dans les frottis du foie et de la moelle osseuse.

2° Une jeune souris est inoculée le 8 novembre 1913, dans le péritoine avec le produit du broyage de la rate et du foie d'un singe infecté de kala-azar indien. — 30 décembre, la souris pèse 18 grammes; la rate paraît grosse.

La souris est sacrifiée le 10 janvier 1914; elle pèse 17 grammes; la rate notablement hypertrophiée pèse 22 centigrammes. On trouve des *Leishmania*, très rares, dans les frottis de la rate; l'examen des frottis du foie et de la moelle osseuse est négatif.

3° Une souris adulte est inoculée le 9 novembre 1913, dans le péritoine, avec le produit du broyage de la rate et du foie d'un singe infecté de kala-azar indien. — 30 décembre, la souris pèse 25 grammes; la rate paraît augmentée de volume. — 27 mars 1914, la souris a maigri, elle ne pèse plus que 19 grammes.

La souris est sacrifiée le 29 mars 1914; elle pèse 19 grammes; la rate, notablement hypertrophiée, pèse 21 centigrammes. Les ganglions inguinaux ont augmenté de volume. On trouve des *Leishmania* très rares dans les frottis de la rate; l'examen des frottis du foie et de la moelle osseuse est négatif.

4° Une souris adulte est inoculée le 12 janvier 1914, dans le péritoine, avec le produit du broyage de la rate et du foie d'un singe infecté de kala-azar indien. La souris qui est en bon état est sacrifiée le 31 août 1914; elle pèse 20 grammes; la rate est grosse, elle pèse 22 centigrammes. On trouve des *Leishmania* très rares dans les frottis de la rate et de la moelle osseuse. L'examen d'un frottis du foie est négatif.

5° Une souris adulte est inoculée le 5 mars 1914, dans le foie, avec le produit du broyage de la rate et du foie d'un singe infecté de kala-azar indien. Le 27 mars, la souris pèse 27 grammes; le 10 avril, elle ne pèse plus que 20 grammes, elle est visiblement malade, le poil est piqué, la souris se met en boule; elle meurt le 20 avril.

On constate à l'autopsie une anémie profonde. Foie et poumons très pâles. La rate pèse 20 centigrammes. *Leishmania* très rares dans les frottis de rate. Examen négatif des frottis de foie et de moelle osseuse.

Rats. — Patton a réussi à infecter un rat blanc (sur 17 inoculés) en lui injectant, dans le péritoine, 3 cent. cubes d'une émulsion faite avec la rate d'un sujet mort de kala-azar indien; l'infection du rat était généralisée (*Leishmania* dans la rate et dans le foie) (1).

De 7 rats blancs inoculés dans le péritoine par Mackie (*op. cit.*) aucun ne s'est infecté.

Le rat paraît donc être très peu sensible au virus du kala-azar indien.

(1) W.-S. Patton, *Scientif. Mem. by Offic. of the med. a. sanit. Dep. of the Gov. of India*, 1912, N. 5, n° 53, p. 33, note; *Indian Jl. of med. Research*, juillet 1913, t. I, n° 1.

Cobaye. Lapin. Chat, etc. — D'après Row, le cobaye et le lapin sont réfractaires à la *L. Donovani.*

Mackie a inoculé sans succès un chat, dans le péritoine, avec le virus du kala-azar indien.

J'ai injecté, à différentes reprises, des cultures de la *L. Donovani* dans le péritoine de 3 *Meriones Shawi* et de 3 *Gerbillus hirtipes* provenant de Tunisie ; aucun de ces animaux ne s'est infecté.

En résumé, on produit avec la *L. Donovani*, comme avec la *L. infantum*, des infections généralisées chez le chien, chez certains singes et chez la souris blanche, plus difficilement chez le rat. Les mêmes procédés d'inoculation sont applicables aux deux virus et les infections provoquées présentent de très grandes ressemblances au point de vue des symptômes, de l'évolution et des lésions. On ne peut donc plus, pour contester l'identité des 2 virus, objecter que les animaux sensibles à la *L. infantum* sont réfractaires à la *L. Donovani.* Il y a lieu toutefois de noter les différences suivantes : le chien se montre moins sensible au kala-azar indien qu'au kala-azar méditerranéen et la leishmaniose canine naturelle, observée dans tous les pays où le kala-azar méditerranéen est endémique, n'a pas encore été signalée dans les régions de l'Inde les plus éprouvées par la leishmaniose humaine ; d'autre part, Row et Korke ont provoqué, chez des macaques, des lésions locales en inoculant, dans le derme ou sous la peau, du virus du kala-azar indien, tandis que les essais d'inoculation de la *L. infantum* faits dans ces conditions ont échoué jusqu'ici.

Un *M. cynomolgus* qui avait acquis l'immunité pour le kala-azar méditerranéen a été inoculé sans succès avec le virus du kala-azar indien, alors qu'un macaque témoin contractait une infection rapidement mortelle.

Je n'entends pas tirer de ce dernier fait, qui est unique, une conclusion ferme, mais il me semble incontestable qu'il fournit un argument de grande valeur en faveur de l'identité de la *L. infantum* et de la *L. Donovani.*

(*A suivre.*)

ADAPTATION DES MICROBES (FERMENT LACTIQUE) AU MILIEU

par CHARLES RICHET.

Ce mémoire a pour but d'établir un fait qui avait été soupçonné et même établi depuis longtemps, mais qui n'avait pas reçu, semble-t-il, de solution précise, peut-être parce qu'au lieu de s'adresser à des organismes simples, dont la vie est rapide, on avait pris des organismes supérieurs, compliqués, à lente évolution. Dans un être complexe, comme une plante phanérogame, ou un insecte, ou un mammifère, on ne peut suivre bien longtemps le développement de plusieurs générations successives, tandis qu'avec des organismes monocellulaires, qui donnent, en 24 heures, 40 ou 50 générations, quelques jours équivalent à quelques siècles, au point de vue de la transformation par l'hérédité.

On avait cependant déjà pu démontrer l'adaptation des microbes, en prouvant que, par des cultures successives sur un certain milieu, les microbes s'habituent à ce milieu, mais jamais encore on n'avait pu donner de chiffres précis pour établir les conditions et les degrés de cette accoutumance.

Et en effet la propriété pathogène d'un microbe, ou même l'intensité de sa coloration, sont des données difficiles (impossibles) à représenter par des chiffres, tandis qu'avec la fermentation lactique on arrive à des chiffres exacts : un degré d'acidité qui comporte une précision remarquable très facile à obtenir. On s'appuie d'ailleurs sur d'extrêmement nombreuses moyennes, et non sur quelques observations presque isolées.

Le point essentiel que je veux essayer de démontrer est le suivant :

Un organisme, s'il a vécu dans un milieu A, pousse plus facilement sur ce milieu A que le même organisme, de même origine, qui a vécu sur un milieu différent de A. Donc il s'est accoutumé au milieu A, et il a transmis son accoutumance à toute sa descendance.

Pour résoudre cette question, je me suis adressé au ferment lactique, que depuis longtemps je considère comme le *test* de choix pour les expériences de ce genre.

I. — TECHNIQUE

La technique employée pour faire cette mesure de l'acidité est des plus simples : du lait de vache, additionné de son volume d'eau distillée et de quelques gouttes de phtaléine, est neutralisé par addition de quelques gouttes de potasse caustique, juste assez pour qu'une coloration à peine rosée apparaisse, si faible encore qu'on n'est pas sûr que la liqueur soit colorée. Il ne convient pas d'ajouter plus de potasse, non parce que cela modifie quelque chose à la fermentation du lait, mais parce qu'alors la stérilisation à 110° caramélise quelque peu le lait, et rend moins facile la perception des colorations acidimétriques.

Le liquide lacté est alors réparti dans des tubes en U, à la dose exactement mesurée de 10 cent. cubes. Des appareils de mesure précise permettent de faire exactement et rapidement cette répartition. Tous les tubes sont recouverts d'un tampon d'ouate et mis à l'autoclave pour stérilisation, à la température de 110° pendant trois minutes.

Au cas où l'on veut que ce lait soit additionné d'une substance toxique quelconque, à la dose, par exemple, de A, par litre, au lieu d'eau distillée, on emploie la solution de ce sel à 2A par litre, ce qui fait que le lait contient A de la substance toxique. Pour avoir $\frac{A}{2}$, on mélange volumes égaux de la solution de lait contenant A avec le lait dilué normal; en mélangeant la solution lactée de $\frac{A}{2}$ avec du lait normal, on a $\frac{A}{4}$, et ainsi de suite. Ce qui permet d'avoir des liqueurs parfaitement comparables ne différant entre elles que par les quantités A, $\frac{A}{2}$, $\frac{A}{4}$ de la substance toxique que l'on veut étudier.

Ces tubes étant ainsi préparés, on ensemence par les procédés habituels les tubes contenant le lait normal N avec le ferment lactique, et, le même jour, on ensemence aussi un des tubes

contenant A. Donc on a un ferment ayant poussé sur du lait normal (N) et un ferment ayant poussé sur du lait toxique (A).

On recommence le lendemain la même opération. Seulement, pour semence, on prend, d'une part, le ferment qui a poussé sur N et, d'autre part, le ferment qui a poussé sur A. Les jours suivants on fait de même, de sorte qu'au bout de quelques jours on a deux variétés de ferment, l'une qui, par ensemencements successifs a poussé de N, en N, en N, l'autre qui, par ensemencements successifs, a poussé de A, en A, en A. Il s'agit de comparer l'activité de ces deux variétés.

La principale précaution à prendre est de rendre la fermentation bien homogène, pour éliminer toute influence perturbatrice : la température par exemple, ou la différence de forme des tubes. A cet effet, les tubes en U qui servent à la fermentation ne sont pas placés seulement dans l'étuve à l'air libre, mais encore dans un récipient plein d'eau, placé lui-même dans l'étuve. Dans ces conditions, la température des divers tubes est absolument identique.

Pour le dosage de l'acidité, il se fait par une solution de potasse à $\frac{2}{1000}$. Mais comme, avec la phtaléine, l'indice colorimétrique varie notablement avec la quantité de phtaléine employée, on ajoute à la solution potassique une assez forte quantité de phtaléine, et on s'arrête dans le titrage quand une coloration nettement rosée apparaît.

Le plus souvent, on faisait deux titrations : la première après 16 heures, la seconde après 22 heures de fermentation, ce qui nécessite, bien entendu, deux tubes différents. C'est la somme de ces deux quantités, celle de 16 et celle de 22 heures, qui était comparée à la somme des deux quantités, de 16 et de 22 heures aussi, pour le ferment normal et le ferment ayant poussé sur A.

Quant à l'ensemencement, il se faisait d'après les procédés classiques, au moyen d'un fil de platine, stérilisé, puis plongé dans la solution où était la semence. Dans certains cas, quand il était nécessaire d'introduire exactement la même quantité de ferment (ce qui est parfois difficile avec le fil de platine), je procédais autrement. J'introduisais quelques gouttes d'un petit-lait ayant fermenté (par un ferment lactique pur) dans un litre d'eau distillée stérilisée. Cette eau, convenablement agitée,

était versée, à la dose de 1 cent. cube, ou de 1/2 cent. cube, dans les flacons où devait s'opérer la fermentation.

Telles sont les conditions techniques pour le dosage de l'acidité et la préparation du lait à fermenter. Quelques précautions spéciales sont à prendre pour le dosage, quand la liqueur est elle-même acide, comme cela est le cas pour le sulfate de cadmium, par exemple, ou le phosphate acide de potassium, ou l'arséniate de potassium. Pour ces deux sels, on remarque que la liqueur est très alcaline au tournesol, alors qu'à la phtaléine elle réagit comme un acide. Dans ces cas, je neutralisais la liqueur mère, additionnée de phtaléine, par de la potasse jusqu'à ce qu'apparût une teinte à peine rosée. Il s'ensuit que toute modification de l'acidité de cette liqueur mère neutralisée, mélangée au lait neutralisé, est bien due à la formation de telle ou telle quantité de sel lactique.

Mais je ne procédais pas ainsi dans tous les cas. Et si, pour une raison ou pour une autre, le lait, additionné de la substance saline, réagissait encore à la phtaléine comme un acide, on dosait cette acidité avant la fermentation. Et cette quantité d'acide préformé était, dans les calculs, retranchée de la quantité d'acide trouvée après fermentation, la différence donnant évidemment la réelle quantité d'acide lactique produit par le ferment.

Cela posé, il s'agit maintenant de savoir comment les calculs peuvent être faits.

Evidemment, ce qui importe dans ce cas, c'est moins la quantité absolue d'acide lactique formée que la comparaison entre l'activité des deux ferments : le ferment N et le ferment A, lorsque tous les deux poussent dans des milieux identiques.

Soit alors, je suppose, une série de tubes contenant 0.00 ; $\frac{A}{2}$, A, et 2A de substance toxique. J'ensemence ces divers tubes avec N. Soit une autre série tout à fait comparable de tubes contenant 0.00, $\frac{A}{2}$, A et 2A de la même substance; je les ensemence pareillement tous avec le ferment A. Ce qu'il faut comparer, dans ce cas, c'est le ferment N ayant poussé sur 0.00 et le ferment A ayant poussé sur 0.00; le ferment N ayant poussé sur A et le ferment A ayant poussé sur A, etc.

Supposons alors, pour prendre un exemple réel, que dans un cas [ensemencement avec le ferment lactique ayant poussé sur du lait normal (N) et ce même ferment ayant poussé sur du lait additionné de 0.9 par litre de bromure de potassium (A)] nous ayons, après 24 heures de fermentation, les chiffres suivants :

Ensemencement par N.

	EN KBr	QUANTITÉ DE KOH pour neutralisation.
	—	—
N	0.0	8 »
$\frac{A}{2}$	0.45 p. 1000	4.8
A	0.90 p. 1000	5.1
2A	1.8 p. 1000	3.5

Ces chiffres, pris en soi, n'ont aucun autre intérêt que de prouver que le ferment pousse d'autant moins bien que la quantité de bromure de potassium dans le lait est plus grande. Mais ils prennent tout leur intérêt, ces chiffres, lorsque je les compare à ce que donne le même ferment qui a poussé depuis quelques jours sur A.

Alors nous avons pour le ferment A les chiffres suivants :

	EN KBr	QUANTITÉ DE KOH pour neutralisation.
	—	—
N	0.0	6.6
$\frac{A}{2}$	0.45 p. 1000	7.5
A	0.90 p. 1000	7.8
2A	1.8 p. 1000	3.7

Alors, pour les comparer, je supposerai que dans tous les cas la quantité d'acide lactique formée par l'ensemencement du ferment N a été égale à 100. La quantité formée par l'ensemencement du ferment A sera dans ce cas :

	EN KBr	RAPPORT D'ACTIVITÉ
	—	—
N	0.0	83
$\frac{A}{2}$	0.45 p. 1000	156
A	0.90 p. 1000	154
2A	1.8 p. 1000	106

Cela veut dire que, si le ferment N a donné dans N une quantité égale à 100, le ferment A, ensemencé dans N, n'aura donné que 88 et, par conséquent, aura moins bien oussé. D'autre

part, si le ferment N, ensemencé dans $\frac{A}{2}$, a donné 100, le ferment A, ensemencé dans $\frac{A}{2}$, aura donné 156 ; par conséquent il aura mieux poussé que le ferment N dans le liquide.

J'appelle, pour simplifier, *rapport d'activité*, ce chiffre qui compare la croissance du ferment A à la croissance du ferment N dans le même milieu.

C'est ce chiffre que vont déterminer les nombreuses expériences qui suivent. On voit tout de suite que, plus le rapport est élevé, plus le ferment A, c'est-à-dire ayant poussé sur un lait toxique, l'emporte en activité sur le ferment N, c'est-à-dire un ferment ayant poussé sur un lait normal.

II. — RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES

Jusqu'à présent, on n'avait pu encore donner ce chiffre indiquant numériquement les degrés de l'accoutumance du ferment aux milieux toxiques dans lesquels on le contraint à vivre. De là, semble-t-il, le grand intérêt de donner à cette loi générale, quelques constantes numériques.

1° Séléniate de potassium (1).

On commence par établir la dose toxique de séléniate de potassium et son influence sur le développement du ferment lactique.

	SÉLÉNIATE DE K en gr. par litre.	
Exp. I.	—	
	0.0	100
	2.5	101
	5.0	102
	7.5	74
Exp. II.		
	0.0	100
	2.5	65
	5.0	66
	7.5	62
Moyenne. . .	0.0	100
	2.5	83
	5.0	84
	7.5	68

(1) Les quantités indiquées se rapportent toujours à des grammes par litre de liquide.

Le 3e jour on prend comme semence le ferment qui a poussé sur 5 (1) : et par comparaison avec le ferment normal on a les trois séries suivantes :

SÉRIE 1.	0.00	2.5	5	7.5
Troisième jour	72	78	146	77
Quatrième jour	89	117	124	142
Cinquième jour.	128	78	126	156
Moyenne . . .	96	98	132	125

Le 6e jour on ensemence avec le ferment qui a poussé sur 7.5 et on a :

SÉRIE 2.	0.00	5	7.5	10
Sixième jour	94	106	126	56
Septième jour	77	116	117	214
Huitième jour	96	111	151	188
Moyenne	89	111	138	153

Alors on ensemence avec le ferment qui a poussé sur 10 et on a :

SÉRIE 3.	0.00	7.5	10	20
Neuvième jour	73	82	158	168
Dixième jour	82	100	180	115
Onzième jour.	90	102	128	240
Douzième jour	110	150	124	235
Moyenne	89	108	148	189

On ensemence avec le ferment qui a poussé sur 20 et on a :

SÉRIE 4.	0.00	10	20	43
Treizième jour	111	122	152	148
Quatorzième jour.	89	118	150	250
Quinzième jour.	96	103	137	194
Seizième jour.	91	144	166	246
Dix-septième jour. . . .	69	104	140	242
Moyenne	91	118	149	222

On ensemence avec le ferment qui a poussé sur 43 et on a :

SÉRIE 5.	0.00	20	43	65
Dix-huitième jour. . . .	75	92	105	93
Dix-neuvième jour	77	131	123	131
Vingtième jour	82	122	145	176
Moyenne	78	115	124	133

(1) Pour simplifier, nous dirons dans le cours de ce travail : ferment à 2 ou à 4, ou à 5, selon qu'il a poussé sur des liqueurs contenant 2, 4, ou 5 grammes par litre de la substance toxique spécialement étudiée.

De cette expérience on peut déduire diverses conclusions :

1° D'abord, quelle que soit la concentration, en séléniate de potassium, de la liqueur où a végété le ferment, quand il a végété sur du lait normal, il a à peu près toujours la même activité par rapport au ferment normal. Elle a été en effet :

Ferment ayant végété sur.	5	96
	7.5	89
	10	89
	20	91
	43	78
Moyenne générale.		85

Toutefois, il semble que le ferment sélénié soit à la longue devenu un peu moins apte à végéter sur le lait normal ; car, si l'on prend la moyenne des groupes de six en six jours, on a :

Groupe 1.	93
Groupe 2.	93
Groupe 3.	81

Mais ce n'est qu'une nuance.

2° Dans toutes les séries il est évident que, plus la quantité de séléniate de potassium est forte, plus, dans ces laits séléniés, le ferment sélénié l'emporte en activité sur le ferment normal.

	0.00	$\frac{A}{2}$	A	2 A
	—	—	—	—
Première série (5).	96	98	132	125
Deuxième série (7.5).	89	111	138	153
Troisième série (10).	89	108	148	189
Quatrième série (20).	91	118	149	222
Cinquième série (43).	78	115	124	133

L'inspection de ces rapports, qui vont en croissant à mesure que la liqueur est plus concentrée en séléniate, montre en toute évidence cette accoutumance du ferment sélénié à des solutions de plus en plus concentrées.

La généralité de ces lois va nous être prouvée par l'étude documentaire d'autres substances anormales, introduites dans le lait.

2° Phosphate de potassium.

Avec le phosphate de potassium il faut, pour faire des dosages par la phénolphtaléine, employer un phosphate de potassium

neutre (tribasique) qui, au tournesol, donne une coloration bleue intense. On l'obtient en saturant le phosphate acide par la potasse, en une liqueur contenant quelques gouttes de phénolphtaléine, et on s'arrête dès qu'une coloration rosée apparaît.

Les premiers dosages ont donné les chiffres suivants :

QUANTITÉ de PO^4K^3 par litre.	MOYENNE de 111 dosages.
0.00	6.0
4.5	6.4
9.0	6.9
18.0	7.3
37.0	2.1

Alors le 4[e] jour on ensemence avec le ferment contenant 18 de phosphate de potassium, et on continue pendant longtemps.

Voici la série successive des rapports d'activité :

	0.00	4.5	9	18	37	75
1.	160	35	102	3	65	0.0
2.	100	51	62	88	100	0.0
3.	66	58	71	93	413	770
4.	102	100	100	129	276	443
5.	107	96	101	137	265	329
6.	100	111	117	130	271	344
7.	106	97	57	67	125	433
8.	97	100	103	106	142	325
9.	93	72	115	100	148	0.0
10.	102	107	107	113	137	200
11.	93	159	152	395	180	0.0
12.	93	108	125	192	205	237
13.	104	135	180	210	255	190
14.	99	104	116	171	175	162
15.	101	106	124	160	167	116
16.	93	102	136	155	290	?
17.	84	110	136	165	150	182
18.	100	105	122	157	215	150
19.	95	117	132	159	125	205
20.	100	140	115	158	167	150
21.	88	84	106	137	395	280
22.	95	92	102	113	214	395
23.	96	100	122	126	188	175
24.	70	85	73	164	134	180
25.	75	84	150	144	370	162
26.	59	87	220	650	190	?
27.	62	103	145	178	205	208

De cette première longue série peuvent déjà se constater divers faits importants.

D'abord, pour les liqueurs contenant 18 grammes, c'est-à-dire identiques à la concentration de la liqueur dans laquelle le ferment a poussé, il s'est fait dans les premiers cinq jours une vraie accoutumance, et le rapport d'activité a été en croissant très régulièrement.

3 88 93 129 137

Ensuite il y a eu quelques irrégularités, facilement explicables par ce fait que ces rapports multiplient énormément les divisions trouvées par le titrage acide.

Mais on retrouve cette progression de l'accoutumance en prenant, pour ces vingt-sept jours, la moyenne de neuf jours.

Premier groupe, de 9 jours	83
Deuxième groupe, de 9 jours	191
Troisième groupe, de 9 jours	224

Ainsi l'accoutumance s'est établie de plus en plus avec le temps, et même au bout de dix-huit jours, elle n'était pas encore maximale.

Nous allons retrouver la même loi, mais en sens inverse, pour les liqueurs témoins ; c'est-à-dire que le ferment phosphaté, habitué de plus en plus au phosphate, pousse, relativement au ferment normal, de moins en moins bien sur du lait normal.

Premier groupe, de 9 jours.	97
Deuxième groupe, de 9 jours.	96
Troisième groupe, de 9 jours.	82

Pour les autres concentrations on a, en prenant des groupements de 9 en 9, les moyennes suivantes :

	0.00	4.5	9	18	37
	—	—	—	—	—
Premier groupe . .	97	80	92	83	201
Deuxième groupe .	96	115	133	191	197
Troisième groupe .	82	99	129	224	221

Ainsi est rendue manifeste l'augmentation avec le temps de l'accoutumance, mais surtout pour les laits phosphatés à 18 grammes, c'est-à-dire pour la concentration à laquelle ont été habitués les ferments servant de semence.

Nous n'avons pas pris les laits ensemencés sur du phosphate de potasse très concentré (75 p. 1.000), car alors ils ne poussent pas toujours. Quelquefois le ferment normal n'y pousse pas; quelquefois ni le ferment normal, ni le ferment phosphaté n'y peuvent pousser.

En ne tenant pas compte des cas où le ferment n'a pas poussé, on trouve les chiffres suivants :

Premier groupe	440
Deuxième groupe	177
Troisième groupe	219

Si l'on élimine le chiffre évidemment trop fort du 1er groupe, on voit bien qu'à partir d'une certaine concentration l'accoutumance n'augmente plus, et même qu'elle diminue, comme si le ferment phosphaté, déjà quelque peu modifié, n'avait pas assez de vitalité pour prospérer sur des liqueurs très fortement phosphatées.

Il est bon de comparer ces progressions à celles que donne le séléniate de potassium. Soit A la concentration de la liqueur d'ensemencement : appelons $\frac{A}{2}$ le lait à 9 de phosphate; A, le lait à 18; 2 A, le lait avec 37, on a :

	0.00	$\frac{A}{2}$	A	2 A
	—	—	—	—
Séléniate de potassium.	85	115	138	164
Phosphate de potassium.	89	118	199	206

Enfin, dans un grand nombre d'expériences on trouve, comme dans la moyenne générale, des progressions vraiment typiques :

	0.00	4.5	9	18	37	75
	—	—	—	—	—	—
3e jour	66	58	71	93	413	770
4	102	100	100	129	276	443
6	100	111	117	130	271	344
8	97	100	103	106	142	325
10	102	107	107	113	137	200
12	93	108	125	192	205	237
18	100	105	122	157	215	150
21	88	84	106	137	395	280
22	95	92	102	113	214	395
25	75	84	150	144	370	162

En présence de ces chiffres on doit être convaincu que le ferment phosphaté s'accoutume au phosphate de potassium.

L'expérience a été poussée plus loin, et pendant assez longtemps encore on a suivi les variations du rapport d'activité avec un ferment ayant poussé sur du lait additionné de 37 grammes de phosphate de potassium.

	0.00	4.5	9	18	37	75
	78	97	99	105	216	200
	82	93	109	134	94	120
	100	84	100	400	350	?
	93	146	150	141	355	400
	91	154	136	200	180	182
	94	116	122	143	154	134
	63	93	108	151	180	?
Moyenne.	86	112	118	182	217	?

Ici encore, nous voyons très nettement l'accoutumance, d'autant plus évidente que la solution est plus concentrée.

3° Nitrate de potassium.

Les premières expériences ont eu pour objet de déterminer les doses d'azotate de potassium qui agissent sur le ferment sain par litre : 62 gr. ; 31 gr. ; 7 gr. 5 ; etc. ; on a :

0.00	100
0,11	95
0,22	61
0,43	31
3,8.	35
7,5.	29
31,0.	24

Alors on fait (au 3ᵉ jour), pendant un mois (31 jours), des ensemencements avec du ferment ayant poussé sur du lait nitraté; et on obtient les chiffres suivants :

Première série. — *Ensemencement pur de ferment ayant poussé sur* 0.11.

	0.00	0.11	0.22	0.43
1.	75	96	137	147
2.	63	96	126	89
3.	77	87	122	130
4.	71	94	164	125
5.	78	93	205	142
Moyenne. .	73	93	151	127

Deuxième série. — *Ferment ayant poussé sur* 0.22.

	0.00	1.75	3,85	7.50
	—	—	—	—
6.	64	86	137	114
7.	58	72	120	158
8.	61	84	116	120
9.	75	94	162	172
10.	67	83	144	300
Moyenne. .	65	84	136	173

Troisième série. — *Ferment ayant poussé sur* 0.43.

	0.00	0.22	0.43	0.85
	—	—	—	—
11.	83	110	160	112
12.	82	110	144	205
13.	86	131	160	202
14.	82	154	180	315
Moyenne. .	84	126	161	208

Quatrième série. — *Ferment ayant poussé sur* 0.85

	0.00	0.43	0.85	1.75
	—	—	—	—
15.	60	85	124	148
16.	88	122	167	165
17.	81	122	167	205
18.	71	100	154	290
Moyenne. .	75	107	153	202

Cinquième série. — *Ferment ayant poussé sur* 1.75.

	0.00	0.85	1.75	3.85
	—	—	—	—
19.	76	88	118	134
20.	79	102	128	156
21.	84	111	122	150
22.	72	112	140	210
23.	59	79	102	190
Moyenne. .	74	98	122	166

Sixième série. — *Ferment ayant poussé sur* 3.85.

	0.00	1.75	3.85	7.50
	—	—	—	—
24.	67	96	105	116
25.	58	75	82	127
26.	62	114	126	129
27.	75	125	173	196
28.	76	114	154	310
Moyenne. .	68	105	128	175

Septième série. — *Fermenι ayant poussé sur* 7.5

	0.00	3.85	7.5	15
	—	—	—	—
29.	75	89	112	172
30.	84	111	150	212
Moyenne. .	80	100	131	192

Huitième série. — *Ferment ayant poussé sur* 15.

	0.00	7.5	15	31
	—	—	—	—
31.	85	101	135	217

Neuvième série. — *Ferment ayant poussé sur* 31.

	0.00	15	31	62
	—	—	—	—
32.	81	86	140	164
33.	64	81	107	211
Moyenne. .	73	84	123	187

On remarquera tout d'abord l'extrême homogénéité de ces chiffres. Pour toutes les séries, et même pour les chiffres de chaque série, il y a, presque sans exception, une accoutumance d'autant plus manifeste que la solution est plus riche en nitrate de potassium.

La moyenne générale, si on suppose l'ensemencement fait par A, donnera pour l'ensemble des séries :

	0.00	$\frac{A}{2}$	A	2 A
	—	—	—	—
Première série . .	73	93	151	127
Deuxième série. .	65	84	136	173
Troisième série .	84	126	161	208
Quatrième série .	75	107	153	202
Cinquième série .	74	98	122	166
Sixième série. . .	68	105	128	175
Septième série . .	[illegible]	100	131	192
Huitième série . .	85	101	135	217
Neuvième série. .	73	84	123	187
Moyenne. .	75	100	138	183

Ce qui concorde d'une manière tout à fait satisfaisante avec les chiffres précédents, à savoir :

Séléniate de potassium. .	85	115	138	164
Phosphate de potassium.	89	118	199	206

Plus encore avec le nitrate de potassium qu'avec le séléniate de potassium et le phosphate de potassium, le ferment s'est habitué à vivre sur des solutions nitratées, de manière à mal végéter sur du lait normal. Ainsi, le ferment normal sur du lait normal donnant 100, le ferment nitraté, poussant sur du lait normal, ne donne plus que 75. Parfois même, par exemple, pour la 2e série, le rapport d'activité n'est plus que de 65, en moyenne. Presque jamais, avec le phosphate de potassium, on n'est descendu aussi bas.

4° Sulfate de cuivre (1).

Le 3e jour, après que le ferment a poussé sur 12 de SO^4Cu, on prend le ferment qui a poussé sur 3 de SO^4Cu, et on trouve :

	0.00	3	6	12
1.	78	106	120	108
2.	107	130	84	100
3.	79	96	69	49
4.	102	122	100	84
5.	112	125	81	112
6.	75	108	112	94
7.	106	99	99	79
8.	105	114	174	67
9.	106	109	168	70
10.	106	130	320	78

En faisant deux groupes de 5 on a :

	0.00	3	6	12
Premier groupe.	96	116	91	91
Deuxième groupe.	101	112	175	78
Moyenne générale. . .	98	114	133	85

On remarquera combien, en réalité, il y a eu une nette accoutumance pour la solution à 6 de SO^4Cu. Dans les cinq premiers jours, et même jusqu'au septième inclusivement, le ferment a très mal poussé. Mais à partir du 8e jour, il a donné des chiffres très forts et croissants, comme si alors, presque soudainement, il s'était habitué au cuivre.

D'autre part, poussant sur du lait très riche en cuivre (12), au lieu de s'habituer, il pousse mal; plus mal même que le ferment normal, comme si, déjà un peu malade, il ne pouvait

(1) Les doses de sulfate de cuivre sont données non plus en grammes, mais en milligrammes par litre.

plus supporter aussi bien que le ferment normal une liqueur très cuivrique.

Mais peu à peu il s'habitue à des liqueurs très cuivriques, comme on le verra par la suite.

DEUXIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 6.

	0.00	3	6	12
11.	105	134	158	149
12.	104	100	150	140
13.	110	162	168	136
14.	109	135	206	110
15.	107	118	158	340
16.	111	116	141	205
Moyenne. .	106	129	163	180

TROISIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 12.

	0.00	6	12	25
17.	101	111	124	120
18.	93	125	109	111
19.	107	109	93	109
20.	116	83	114	120
21.	128	98	117	119
22.	121	102	118	135
Moyenne. .	110	105	112	117

QUATRIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 25.

	0.00	12	25	50
23.	104	94	111	134
24.	107	136	136	118
25.	130	129	180	180
26.	106	110	131	73
27.	108	100	106	94
28.	106	125	162	100
29.	98	116	117	119
30.	78	96	71	60
31.	102	123	100	97
Moyenne. .	104	114	124	108

CINQUIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 50.

	0.00	25	50	75
32.	114	126	82	113
33.	82	109	114	95
34.	105	105	83	103
35.	106	128	155	76
36.	106	120	168	130
37.	104	121	129	176
38.	105	119	129	209
39.	103	117	125	181
Moyenne. .	103	118	132	135

SIXIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 75.

	0.00	50	75	152
	—	—	—	—
40.	106	125	127	59
41.	76	83	81	70
42.	101	119	100	112
43.	108	102	107	166
44.	111	119	200	88
45.	110	128	152	255
46.	104	105	146	88
47.	105	107	130	159
48.	114	129	162	162
49.	108	115	152	247
Moyenne. .	104	113	140	140

En divisant en deux groupes, on a :

Premier groupe.	102	109	140	100
Deuxième groupe.	107	117	140	181

On remarquera ici que, contrairement à ce qui s'est passé pour la 1re série, l'accoutumance à la solution cuivrique forte s'est faite assez difficilement.

SEPTIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 125.

	0.00	75	125	520
	—	—	—	—
50.	102	124	136	172
51.	103	118	112	104
52.	100	110	87	98
53.	116	88	109	109
54.	104	126	122	123
Moyenne. .	108	112	113	121

HUITIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 250.

	0.00	125	250	500
	—	—	—	—
55.	112	225	200	226
56.	107	119	168	117
57.	134	100	132	103
58.	106	127	173	200
59.	116	100	125	134
60.	110	131	140	385
61.	111	117	124	302
62.	104	92	104	121
63.	105	110	132	106
64.	106	116	116	250
Moyenne. .	112	124	141	195

NEUVIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 500.

	0.00	250	500	700
65.	100	100	124	118
66.	104	100	151	140
67.	107	117	140	154
68.	107	124	150	106
Moyenne. .	104	110	141	129

DIXIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par ferment sur* 750.

	0.00	500	750	1.000
69.	101	103	103	87
70.	104	96	111	132
71.	103	276	196	232
72.	76	224	225	255
Moyenne. .	96	175	159	176

En réunissant ces diverses séries, on a les chiffres suivants :

	0.00	$\frac{A}{2}$	A	2A
	98	114	133	85
	106	129	163	180
	110	115	112	117
	104	114	124	108
	103	118	132	135
	104	113	140	140
	108	112	113	121
	112	124	141	195
	104	110	141	129
	96	175	159	176
Moyenne générale.	104	122	136	138

L'accoutumance est donc très nette pour le sulfate de cuivre, puisque cette moyenne générale, bien homogène en somme, résulte d'un nombre considérable d'expériences.

On remarquera que le ferment ayant vécu sur du lait cuivrique donne presque toujours sur du lait normal des quantités d'acide lactique plus fortes que le ferment ayant vécu sur du lait normal. C'est le contraire de ce que nous avions vu pour les laits contenant du séléniate ou du phosphate de potassium.

On remarquera aussi qu'entre A et 2A de concentration la différence est presque nulle.

Enfin l'accoutumance ne paraît guère augmenter avec le temps. Il est vrai qu'on fait croître la concentration de la solu-

tion sur laquelle pousse le lait, de sorte qu'il est difficile de savoir quelle est la part de l'accoutumance même, ou de la concentration croissante de la solution. L'identité presque absolue entre les chiffres des cinq premières séries et les chiffres des cinq dernières semblerait prouver qu'à partir du huitième ou dixième jour l'accoutumance s'est établie, et qu'elle ne va plus s'accroître.

5° Chlorure de sodium.

Les doses de chlorure de sodium doivent être très fortes pour que quelque différence se manifeste dans le croît du ferment. Les chiffres indiqués ici se rapportent toujours, en grammes, à un litre de liquide.

Voici d'abord quelques chiffres se référant à un autre liquide que le lait employé précédemment : j'opérais sur une solution de petit-lait presque neutralisé. Les expériences sont peu nombreuses.

Ensemencement par ferment ayant poussé sur 150 *grammes de NaCl.*

	0.00	150	200
	93	82	124
	107	101	124
	103	134	94
	94	141	118
Moyenne.	99	114	115

Elles semblent montrer une certaine accoutumance croissante; et d'ailleurs, ce qui les rend intéressantes, c'est que le dosage dans la solution de lactose peut se faire avec une grande précision.

Ensemencement par le ferment ayant poussé sur 150.

	0.00	150	200	250
1.	93	104	106	104
2.	104	130	124	330
3.	122	136	128	114
4.	145	151	158	150
5.	120	130	140	124
6.	127	135	129	136
7.	89	89	77	136
Moyenne .	114	125	123	156

Ensemencement par le ferment ayant poussé sur 75.

	0.00	75	150	250
	—	—	—	—
8.	105	105	144	171
9.	116	109	150	135
Moyenne .	110	107	147	153

Ensemencement par le ferment ayant poussé sur 150.

	0.00	75	150	250
	—	—	—	—
10.	123	(148)	158	(155)
11.	(156)	111	121	132
12.	91	127	76	100
13.	103	103	91	98
14.	87	81	133	137
15.	93	92	77	112
16.	105	102	101	130
17.	77	77	67	120
18.	95	111	146	98
19.	96	110	(195)	118
Moyenne .	103	106	116	120

En comparant cette troisième série, on voit qu'il n'y a pas de progrès dans l'accoutumance. Au contraire, les rapports sont notablement moins réguliers; car, si de la troisième série on retranche le chiffre le plus fort, celui que nous mettons entre parenthèses, on aurait une moyenne assez différente.

Moyenne .	78	101	107	116

Tout de même, même après cette élimination, il n'en reste pas moins établi qu'avec NaCl il y a accoutumance, mais que par le temps elle ne semble pas s'accroître.

La moyenne d'ensemble pour l'accoutumance du ferment au NaCl nous donne :

0.00	107
—	—
$\frac{A}{2}$	111
A	120
2 A	138

6° Bromure de potassium.

Avec le bromure de potassium les expériences ont été très nombreuses. Je donnerai d'abord la première série de ces

expériences; on verra qu'elles sont à peu près identiques aux secondes qui les contrôlent.

Première série. — *Ferment ayant poussé sur* 0.45 *p.* 1000.

	0.00	0.22	0.45	0.90
	—	—	—	—
1.	98	106	107	100
2.	92	98	103	91
3.	93	102	107	143
4.	76	92	125	110
5.	76	91	107	116
6.	87	93	114	138
Moyenne.	87	98	110	116

Deuxième série. — *Ferment ayant poussé sur* 0.9 *p.* 1000.

	0.00	0.22	0.45	0.90	1.8
	—	—	—	—	—
7.	77	93	107	124	2
8.	85	94	105	178	2
9.	83	?	156	156	106
10.	83	?	103	125	115
11.	89	?	104	105	119
12.	94	?	105	127	154
Moyenne.	85	96	113	136	123

Troisième série. — *Ensemencement avec* 1.8 *p.* 1000.

	0.0	0.9	1.8	3.7
	—	—	—	—
13.	67	86	112	89
14.	91	105	125	128
15.	69	106	126	128
16.	94	104	122	160
Moyenne.	80	100	121	126

Quatrième série. — *Ensemencement avec* 3.7 *p.* 1000.

	0.0	1.8	3.7	7.5
	—	—	—	—
17.	82	107	108	124
18.	92	108	106	108
19.	72	105	122	170
20.	61	126	143	225
Moyenne.	77	112	120	157

Cinquième série. — *Ensemencement avec* 7.5 *p.* 1000.

	0.0	3.7	7.5	15
	—	—	—	—
21.	90	107	132	144
22.	73	136	153	210
23.	59	117	114	174
24.	72	132	150	225
Moyenne.	74	123	137	188

SIXIÈME SÉRIE. — *Ensemencement avec 15 p. 1000.*

	0.00	7.5	15	30
	—	—	—	—
25.	69	122	140	208
26.	77	113	138	150
27.	73	127	156	216
28.	65	146	178	215
Moyenne. .	71	127	153	197

Ainsi, pour ces six premières séries, on voit avec une netteté éclatante que le ferment s'est successivement habitué à vivre sur des milieux de plus en plus riches en bromure de potassium.

Nous avons, en effet :

		0.00	$\frac{A}{2}$	A	2 A
		—	—	—	—
A = 0.45	Première série . . .	87	98	110	116
A = 0.90	Deuxième série . . .	85	96	113	136
A = 1.85	Troisième série. . .	80	100	121	126
A = 3.7	Quatrième série. . .	77	112	120	157
A = 7.5	Cinquième série . .	74	123	137	188
A = 15.0	Sixième série	71	127	153	197
	Moyenne. . .	79	108	126	153

Et cette accoutumance se traduit par deux phénomènes connexes, qui ont autant de valeur l'un que l'autre pour prouver l'accoutumance, à savoir : d'une part, que le ferment qui a poussé sur bromure de potassium pousse (relativement au témoin) de moins en moins bien sur le lait normal; d'autre part, que le même ferment qui a poussé sur bromure de potassium pousse (relativement au témoin) de mieux en mieux sur du lait normal.

Il n'est pas probable que cette accoutumance croissante dans les séries soit due uniquement à ce que la solution dans laquelle végète le ferment qui ensemence est de plus en plus concentrée. Car, dans une même série, toutes conditions égales d'ailleurs, on voit bien que dans les derniers jours le rapport est plus fort que dans les premiers.

Soient les moyennes que nous avons données, égales à 100; on a dans chaque série, pour les tubes des premiers jours et les tubes des seconds jours, les moyennes suivantes :

1° Pour les premiers jours :

	0.00	$\frac{A}{2}$	A	A
	—	—	—	—
Première série. . .	108	103	96	96
Deuxième série . .	97	?	108	97
Troisième série . .	99	85	108	85
Quatrième série. .	113	95	89	72
Cinquième série. .	110	99	104	94
Sixième série . . .	103	93	91	92
Moyenne. .	104	95	98	91

2° Evidemment, les chiffres des seconds jours sont complémentaires, de sorte qu'on aurait pour eux :

96	105	102	109

Ces chiffres montrent bien que, d'une part, avec le temps, les ferments habitués au bromure de potassium finissent par pousser moins bien que les ferments normaux dans le lait normal; d'autre part, que ces ferments habitués finissent par pousser mieux que le ferment normal dans le lait contenant du bromure de potassium.

Mais ce ne sont, à vrai dire, que des nuances, et on peut dire que dès le deuxième ou troisième jour l'accoutumance s'est manifestée nettement, encore qu'elle ne soit pas aussi complète qu'elle sera plus tard.

7° Arséniate de potassium.

C'est avec l'arséniate de potassium que les expériences ont été le plus nombreuses. Il s'est trouvé, en effet, que c'est surtout avec l'arséniate de potassium que l'accoutumance s'établit. On sait depuis longtemps d'ailleurs que les arséniates, si toxiques pour les animaux (qui ont un système nerveux), sont à peu près inoffensifs pour les ferments et levures végétales. Dans des solutions aqueuses contenant 5 p. 100 d'arséniate de bromure de potassium, les champignons et les moisissures poussent en grande abondance.

Afin de ne pas multiplier les chiffres, je ne donnerai que mes dernières expériences.

On commence par ensemencer avec du ferment normal des liqueurs contenant des quantités variables d'arsenic, et on a,

déduction faite de l'acidité primitive (car l'arséniate de potassium n'avait pas été complètement neutralisé) :

QUANTITÉ D'ARSÉNIATE DE POTASSIUM par litre.	ACIDITÉ EN CC. DE KOH
0.0	6.7
—	—
1.5.	5.1
3.1.	4.5
6.2.	1.9
12.5.	1.2

Cela fait, on ensemence par du ferment normal N, et d'autre part par du ferment ayant poussé sur 1.5; et trois jours après par du ferment ayant poussé sur 3.1.

On a alors les suivants rapports d'activité :

	0.00	1.5 $\left(\frac{A}{2}\right)$	3.1 (A)	6.2 (2 A)	1.25 (4 A)
	—	—	—	—	—
	93	83	123	250	188
	82	96	125	269	250
	100	94	104	(285)	230
	(112)	130	152	167	163
	79	152	147	158	235
	84	148	168	175	195
	87	127	148	190	205
	90	122	138	188	200
	92	152	132	154	220
	93	160	135	144	270
	97	125	133	144	305
	82	101	122	150	322
	95	107	150	245	(400)
	93	(217)	(215)	201	177
Moyenne (en éliminant le chiffre le plus fort de chaque colonne) :					
1er groupe de 7 .	88	119	138	201	209
2e groupe de 7 .	91	128	130	175	249
Moyenne générale	89	124	134	188	229

De ces chiffres, qui sont en somme très cohérents, on peut en déduire que l'accoutumance n'a pas notablement cru dans le second septénaire.

En prenant comparativement les quatre premiers et les

quatre derniers jours, et toujours en éliminant le chiffre le plus fort, on a, pour les rapports d'activité :

4 premiers jours .	91	101	126	229	208
4 derniers jours. .	92	111	126	185	268

On voit qu'il y a eu quelque accroissement, mais, en somme, assez peu notable, sinon pour les solutions très concentrées.

Il est vrai que le ferment arsenical, même avant ces expériences, avait poussé pendant quatre jours déjà sur des solutions arsenicales, avec quatre ensemencements successifs.

Au 24 janvier, c'est-à-dire au quinzième jour, on ensemence avec le ferment qui a poussé sur 6.2; et on a :

0.00	1.5	3.1	6.2	12.5
(127)	156	180	204	127
70	(170)	170	(330)	(741)
48	150	(230)	190	130
70	114	205	250	120
78	109	116	140	190
90	102	130	210	310
88	110	150	190	210
85	102	122	162	300
100	154	168	154	270
73	120	160	178	272
91	134	168	170	265
82	112	154	162	∞
75	89	110	114	235
82	104	109	106	46
30	100	128	135	178

Quoiqu'il y ait quelque incohérence dans ces chiffres, on peut cependant en déduire une moyenne générale (toujours en éliminant le chiffre le plus fort de chaque colonne) et on a alors :

1er groupe de 8. .	76	121	153	192	198
2e groupe de 7. .	76	116	142	146	211 (?)
Moyenne générale..	76	119	147	169	204

En comparant les chiffres de cette série (à 6 p. 1.000) aux chiffres de la série précédente (à 3 p. 1.000) on voit que le rapport d'activité n'a pas augmenté; au contraire, qu'il a semblé

diminuer, comme si le ferment arsenical légèrement malade ne pouvait plus aussi facilement végéter dans les liqueurs arsenicales.

Et cela apparaît nettement si on compare le premier groupe de huit jours au second groupe de sept jours. Là, évidemment, il y a une notable diminution.

D'autre part, très nettement aussi, l'accoutumance a augmenté par la plus grande difficulté du ferment arsenical à vivre sur du lait normal. Alors que le rapport d'activité était de 92 dans la première série, il est de 76 dans la seconde.

Ainsi, l'accoutumance du ferment arsenical se manifeste par une bien moindre aptitude (que le ferment normal) à pousser sur du lait normal.

Une troisième série a été poursuivie dans laquelle l'ensemencement était fait par du ferment ayant poussé sur 12.5 d'arséniate de potassium. Les résultats sont assez peu cohérents. Toutefois, nous croyons les devoir donner :

0.00	1.5	3.1	6.2	12.5	25
—	—	—	—	—	—
85	46	90	100	100	77
58	110	105	100	123	205
86	23	33	47	100	?
96	(135)	(146)	37	100	67
96	87	106	124	205	147
87	100	89	154	212	265
62	67	62	68	94	56
(97)	107	100	140	(350)	(400)
57	67	103	177	110	100
72	88	108	190	170	154
92	100	100	120	109	132
90	121	68	(215)	150	100
Moyenne des 6 premiers jours :					
85	75	85	94	140	?
Moyenne des 6 derniers jours :					
75	91	90	139	126	?
Moyenne générale :					
80	83	87	110	133	130

Ainsi quand on fait pousser le ferment sur une liqueur trop riche en arsenic, loin de s'accoutumer, le ferment devient malade, et pousse, même dans des liqueurs arsenicales, moins bien que le ferment normal. Il y a donc un *optimum* pour l'accoutumance du ferment aux liqueurs arsenicales, et cette

accoutumance semble être aux environs de 5 grammes d'arséniate de potassium par litre, en chiffres ronds.

D'autres expériences, très nombreuses, ont été encore faites par cette même méthode sur l'accoutumance du ferment lactique à l'arsenic; mais je ne les donne pas, car elles ne font que confirmer les résultats qui viennent d'être indiqués ici.

Je retiendrai seulement ceci, c'est que, *dans certains cas*, sans que j'aie pu encore en déterminer les conditions, le ferment arsenical est si bien habitué à l'arsenic qu'il ne pousse plus du tout sur du lait normal, ou du moins avec une très grande lenteur.

La moyenne des rapports a donc été, pour l'arséniate de potassium :

Première série . .	(A = 3.1)	89	124	134	188
Deuxième série . .	(A = 6.2)	76	147	169	204
Troisième série . .	(A = 12.5)	80	87	110	130
Moyenne générale . . .		81	119	138	174

8° Nitrate de thallium.

Le ferment lactique normal est ensemencé sur du lait contenant par litre 0,166 de nitrate de thallium. A cette dose, le nitrate de thallium ralentit notablement la fermentation, comme l'indique l'expérience suivante :

ACIDITÉ (EN CENT. CUBES DE KOH AU MILLIÈME) POUR 10 CENT. CUBES DE LIQUEUR

	Témoins.	Lait avec 0 gr. 08 de nitr. de Tl.	Lait avec 0.166 de nitr. de Tl
	—	—	—
	8.8	4.7	4.0
	9.0	4.9	3.9
	9.1	5.0	4.1
	8.7	4.8	4.1
	11.4	6.0	5.3
	10.1	6.0	5.3
	10.9	6.2	5.0
Moyenne . . .	68.0	37.6	31.7

Soit, en faisant les tubes témoins = 100, on a :

Solution à 0.08	55
Solution à 0.166	47

On détermine alors dans une première série (ensemencements par du ferment à 0.166) le rapport d'activité.

	0.00 **0.00**	$\frac{A}{2}$ **0.08**	A **0.166**
	—	—	—
Premier jour.	83	110	114
Deuxième jour	89	108	109
Troisième jour. . . .	(57)	(205)	(190)
Quatrième jour. . . .	77	95	99
Cinquième jour. . . .	75	107	106
Sixième jour	50	102	101
Septième jour	69	103	112

Moyenne (en éliminant l'exp. 3 qui est aberrante) :

$$0.00 = 78$$
$$\frac{A}{2} = 104$$
$$A = 107$$

Deuxième série. — *Ensemencement par* 0.12.

0.00	**0.12**	**0.25**	**0.5**	**1**
—	—	—	—	—
53	105	45	112	75
50	47	79	52	92
93	65	100	92	83
90	105	95	58	72
77	131	103	125	67
(112)	113	178	225	200
64	128	290	(318)	270
66	(291)	250	188	107
88	184	(375)	255	130
12	57	85	129	(330)
80	91	100	94	36
76	86	103	109	48
74	109	119	113	84

Moyenne (en éliminant le chiffre le plus fort de chaque colonne) :

Les six premiers.	75	94	100	111	98
Les sept derniers	66	109	157	148	112
Moyenne.	70	101	128	129	105

Troisième série. — *Ensemencement par* 0.25.

	0.00	**0.12**	**0.25**	**0.5**	**1**
	—	—	—	—	—
	56	108	81	147	92
	58	53	115	107	73
	77	104	102	117	?
Moyenne.	70	88	99	124	82

4

QUATRIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par* 0.25.

	0.00	0.12	0.25	0,5	1
	33	57	130	147	142
	77	98	102	118	138
	102	112	113	108	255
	96	119	136	115	295
Moyenne.	77	96	120	122	207

CINQUIÈME SÉRIE. — *Ensemencement par* 1.

	0.00	0.12	0.25	5	1
	111	113	124	102	189
	78	114	136	123	181
	97	108	127	110	145
	87	104	114	85	174
	108	116	109	128	169
Moyenne.	96	113	122	110	171

La moyenne des rapports d'activité a donc été pour le nitrate de thallium :

		0.00	$\frac{A}{2}$	A	2 A
Première série	(A = 0.16)	78	104	107	»
Deuxième série. . . .	(A = 0.12)	77	»	101	128
Troisième série . . .	(A = 0.25)	70	88	99	124
Quatrième série . . .	(A = 0.50)	77	120	122	207
Cinquième série . . .	(A = 1 »)	96	110	171	»
	Moyenne	78	104	120	153

Ainsi, l'accoutumance au nitrate de thallium est très nette, comme aux autres sels. Mais il semble que pour bien voir la différence de croît (sur le lait normal) entre le ferment normal et le ferment habitué au thallium, il soit préférable d'ensemencer avec un ferment qui a poussé sur 0,12, au lieu d'un ferment qui a poussé sur 1.

9° Saccharose.

PREMIÈRE SÉRIE. — *Ensemencement par du ferment ayant poussé sur* 6 *gr.* 25 *de saccharose par litre.*

	0.00	3.1	6.25	12.5
	84	107	128	98
	91	100	125	66
	100	112	111	99
	98	119	130	132
	100	131	117	120
	103	131	133	120
Moyenne.	96	117	124	106

Deuxième série. — *Ferment à* 12.5.

	0.00	6.2	12.5	25
	—	—	—	—
	100	110	110	
	107	?	127	108
	111	143	155	176
	104	104	117	151
Moyenne. .	105	119	127	133

Troisième série. — *Ferment à* 25.

	0.00	12.5	25	50
	—	—	—	—
	98	110	99	92
	105	111	132	97
	110	117	172	139
	100	114	136	121
	87	110	177	181
	82	95	150	166
	108	123	174	140
	103	111	146	160
	105	116	176	188
Moyenne. .	100	112	151	143

Quatrième série. — *Ferment à* 50.

	0.00	12.5	25	50	100
	—	—	—	—	—
	114	134	138	151	
	88	114	125	134	
	97	»	98	112	83
	104	»	113	130	84
	97	»	107	124	118
	98	»	110	131	162
	89	»	123	130	125
	97	»	105	119	106
	97	»	104	117	103
	102	»	96	134	107
	77	»	164	181	140
Ici un seul dosage :					
	103	»	106	124	113
	100	»	94	109	107
	98	»	105	131	130
	104	»	114	117	160
Moyenne.	91	(124)	123	134	136

Cinquième série. — *Ferment à 75 (un seul dosage).*

	0.00	50	75	100
	—	—	—	—
	103	110	117	88
	115	113	148	13
	88	93	124	100
	105	120	140	85
	85	100	138	104
	97	101	168	134
	93	100	104	117
	99	108	117	144
Moyenne. .	98	105	132	110

Sixième série. — *Ferment à 100 (un seul dosage).*

	0.00	50	75	100	150
	—	—	—	—	—
	99	124	111	95	»
	101	99	116	138	»
	101	»	113	124	118
	103	»	120	131	105
	128	»	127	133	103
Moyenne.	106	111	117	124	109

En reprenant dans leur ensemble ces expériences avec le sucre, on trouve les moyennes suivantes :

	0.00	$\frac{A}{2}$	A	2 A	Moyenne des $\frac{A}{2}$ et 2 A
	—	—	—	—	—
Première série	96	117	124	106	= 116
Deuxième série	105	119	127	133	= 126
Troisième série	100	112	151	143	= 135
Quatrième série	91	123	134	136	= 131
Cinquième série	98	105	132	110	= 116
Sixième série	106	117	124	109	= 116
Moyenne	99	115	132	123	

Ces expériences, très homogènes, montrent divers phénomènes intéressants, et permettent de fixer en quelque sorte un maximum pour le rapport d'activité.

1° Lorsque le ferment a poussé sur le liquide A, c'est lorsque le ferment est ensemencé dans A, que le rapport d'activité est maximal, plus grand que lorsqu'il est ensemencé sur $\frac{A}{2}$ ou 2A.

2° C'est pour des concentrations moyennes que le rapport

d'activité est maximal (Troisième série) quand le ferment est ensemencé sur une liqueur contenant 25 grammes par litre de saccharose.

3° Il y a certainement une accoutumance, notamment pour la concentration 2A ; car si, dans chaque série, nous prenons les premières mensurations de 2A, nous les trouvons toujours plus faibles que les dernières.

III. — CONCLUSION

Reprenons maintenant ces chiffres dans leur ensemble, et nous pourrons en dégager plus nettement les lois générales.

Soient les concentrations $\frac{A}{2}$, A et 2A, nous aurons pour la vie du ferment A comparée à la vie du ferment N :

	0.00	$\frac{A}{2}$	A	2 A
	—	—	—	—
Séléniate de K . .	85	115	138	164
Phosphate de K. .	89	118	199	206
Azotate de K. . .	75	100	138	183
Sulfate de Cu. . .	104	122	136	138
Chlorure de Na. .	107	111	120	138
Bromure de K . .	79	108	126	153
Arséniate de K. .	81	119	138	174
Nitrate de Tl. . .	78	104	120	153
Saccharose. . . .	99	115	132	123
Moyenne. . . .	88	112	138	159

Cette moyenne, qui résulte d'un nombre considérable de dosages, — plus de 10.000, — prouve en toute évidence l'accoutumance des microbes aux substances toxiques. Il semble donc que le fait soit établi en dehors de toute contestation.

Les substances avec lesquelles il a été expérimenté sont assez diverses et nombreuses, pour que désormais on puisse affirmer qu'une non-accoutumance, si on la rencontre, sera l'exception. Bien entendu, on ne pourra alors parler de non-accoutumance que lorsqu'on aura expérimenté avec des solutions de concentration très différente.

Non seulement l'accoutumance est la loi; mais encore la diminution d'activité du ferment accoutumé quand on le remet à pousser sur du lait normal. Presque constamment (sauf le cas

du NaCl) il pousse alors moins bien que le ferment normal : cela n'est pas surprenant, puisque aussi bien ce ferment a été altéré par un poison : mais, ce qui est remarquable, c'est que cette diminution de vitalité coïncide avec une vitalité plus grande (par rapport au ferment normal) quand on le fait pousser sur des solutions auxquelles il a été habitué.

Par cette méthode, bien des questions relatives à l'hérédité sont encore à résoudre, sur lesquelles va porter mon attention maintenant (1).

1° A partir de quelle limite l'accoutumance commence-t-elle?

2° Combien de temps persiste-t-elle?

3° Y a-t-il interchange entre les diverses substances toxiques ; et peut-on considérer, au moins dans certains cas, cette accoutumance comme un phénomène osmotique?

Il est vraisemblable que cette méthode permettra de résoudre ces différentes questions, si importantes dans l'histoire de l'hérédité et de l'adaptation.

(1) Depuis que ce mémoire a été écrit (mars 1914) j'ai fait quelques expériences nouvelles qui seront prochainement publiées.

ESSAIS D'IMMUNISATION DES PETITS RONGEURS CONTRE LES PARATYPHIQUES NATURELLEMENT PATHOGÈNES POUR CES ANIMAUX

par J. DANYSZ et Z. SKRZYNSKI.

(Laboratoire de Parasitologie agricole de l'Institut Pasteur.)

On connaît aujourd'hui plusieurs races ou variétés de cocco-bacilles appartenant au groupe de paratyphiques ou de *bac. enteritidis* qui sont naturellement pathogènes pour les petits rongeurs.

Ils peuvent infecter ces animaux quand ils sont absorbés avec un liquide ou un aliment quelconque ou bien par simple contact avec les muqueuses buccales ou nasales. Les animaux infectés meurent avec des lésions de la rate, du foie et de l'intestin grêle qui présentent beaucoup d'analogie avec celles de la fièvre typhoïde de l'homme; aussi Lœffler, qui le premier a observé, parmi les souris blanches de son laboratoire, une épidémie due à un de ces microbes, lui a donné le nom de *bacillus typhi murium*. Nous proposons de conserver ce nom pour tous les microbes de ce groupe pathogène pour les petits rongeurs, bien que, d'après les recherches les plus récentes sur leurs propriétés biochimiques et notamment d'après celles de Mühleus, Dahm et Fürst [1] et celles de Hurler [2], il faudrait classer le *bac. typhi murium de Lœffler* parmi les paratyphiques B, et *les bacillus ratti* de *Danysz*, *Dunbar*, *Issatchenko* et *Neumann* parmi les bacilles de l'entérite de Gaertner.

Il nous semble, en effet, que pour un essai de classification de microbes pathogènes, l'identité des propriétés pathogéniques (comme c'est le cas ici) est tout au moins aussi importante que l'identité des propriétés biochimiques observée *in vitro*.

Par l'ensemble de leurs caractères, ces microbes forment un

groupe bien homogène, et nous proposons de désigner chaque type par une lettre différente.

Toutes nos expériences avaient été faites avec le *bac. typhi murium*, *type B*, qui a déjà été décrit dans ces *Annales* [3].

Virulence.

Le *bac. typhi murium*, *type B*, est actuellement pathogène pour toutes les espèces de *Microtinées* (campagnols) et pour un grand nombre d'espèces du genre *Mus* et notamment pour le *M. musculus*, *M. sylvaticus*, *M. decumanus*, *M. rattus*, — mais sa virulence pour toutes ces espèces n'est pas de même degré ni de la même nature. A l'origine, il n'était virulent que pour les campagnols et les souris blanches ou grises, et n'est devenu pathogène pour les rats qu'à la suite d'une adaptation obtenue par des cultures en séries dans des milieux contenant des humeurs de rat plus ou moins modifiées par la digestion [3]. Un procédé analogue a permis à Dujardin-Beaumetz [4] de rendre le microbe de la péripneumonie des bovidés pathogène pour les moutons et les chèvres. L'expérience suivante nous a prouvé, en outre, que la virulence naturelle et la virulence acquise sont dues à des principes différents.

En effet, quand on conserve dans de petites ampoules en verre, scellées à la lampe, un virus qui tuait les souris en 5 à 7 jours et les rats en 5 à 15 jours, et quand on essaie la virulence des cultures obtenues de ces ampoules, d'abord tous les 2 ou 3 mois et ensuite une ou deux fois par an, on constate que, *pour les souris*, la virulence de ces cultures reste d'abord constante et qu'ensuite elle augmente même un peu avec le temps, tandis que, *pour les rats*, la virulence diminue progressivement et se perd complètement au bout de quelques années. Ainsi, nous possédons de ces cultures conservées depuis 1901 qui, au moment de leur mise en ampoules, étaient très virulentes pour les rats et ne tuaient les souris qu'en 5 à 8 jours, et qui, réensemencées et essayées l'année dernière, tuaient toutes les souris en 3 à 4 jours et étaient absolument inoffensives pour les rats. *Il est donc impossible d'admettre que la substance virulente soit la même dans les deux cas.*

Pour les campagnols et les souris, la virulence est, pour

ainsi dire, *une propriété naturelle* que ces microbes conservent aussi longtemps que leur vie. Ceux qui survivent le plus longtemps, qui ont fait preuve par conséquent de plus de vigueur et de résistance, se montrent également les plus virulents. On constate, en effet, en ensemençant le contenu des ampoules sur des milieux solides, que le nombre des microbes qui repoussent et donnent de nouvelles colonies diminue progressivement. Après une conservation de 10 ans à la température de laboratoire, une ampoule de 1 cent. cube ensemencée sur une plaque de gélose ne donnera qu'un petit nombre de colonies isolées qu'il sera facile de compter.

On peut hâter ce processus de sélection en conservant les ampoules à l'étuve, à une température de 36-37 degrés, ou bien en cultivant le microbe dans un milieu plus pauvre en substances nutritives; on peut le prolonger, par contre, en gardant les ampoules à la glacière (1).

La virulence du *bac. typhi murium* pour les rats est, au contraire, *une propriété acquise* qui se transmet par hérédité à travers un grand nombre de générations dans les passages successifs *in vitro*, mais qui s'atténue avec le temps. Le microbe finirait même par la perdre complètement si on ne la lui rendait par un traitement approprié.

Merechkowsky [5], qui a publié sur la culture et la virulence de ce même microbe une série de travaux remarquables, a fait sur ce sujet une expérience des plus démonstratives. Il a fait de très nombreux passages (près de 1.500) renouvelés chaque jour, d'une part, dans un milieu très riche en substances nutritives (bouillon de viande peptonisé), d'autre part, dans un milieu très pauvre (extrait aqueux à 10 p. 100 de blanc d'œuf cuit), et il a remarqué que, dans le premier cas, la virulence du microbe pour les rats se conservait moins longtemps que dans l'autre.

Il est évident que cette différence dans la durée de la virulence doit être attribuée principalement, sinon exclusivement, à la différence de rapidité avec laquelle les microbes se multiplient dans les deux cas. Pour un temps donné, le nombre des générations successives sera beaucoup plus grand dans le

(1) Il est à noter que les cultures en milieu de Merechkowsky conservées en ampoules scellées à 37° sont stérilisées déjà après 8 à 10 mois.

bouillon riche que dans le bouillon pauvre, et pour le même nombre de générations le résultat serait très probablement identique.

Le *bac. typhi murium B.* est inoffensif par ingestion pour tous les autres animaux, mais il tue les cobayes inoculés dans le péritoine et les lapins inoculés dans les veines.

DOSAGE DE LA VIRULENCE POUR LES SOURIS BLANCHES

I. — Inoculation sous la peau.

Avec une culture de 24 heures en bouillon peptonisé, on fait une série de dilutions de 1 p. 2.500 à 1 p. 1 milliard, on inocule sous la peau chaque dilution à 3 souris, à la dose de 1 cent. cube pour chaque souris, et, en même temps, pour se rendre compte de la quantité de microbes injectés, on ensemence 1 cent. cube de chaque dilution sur plusieurs plaques de gélose.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Exp. 1. DILUTIONS	SOURIS MORTES EN	NOMBRE DE COLONIES
1 pour 2.500 . . .	3 à 4 jours	innombrables
1 pour 25.000 . . .	3 à 4 jours	innombrables
1 pour 250.000 . . .	7 à 8 jours	innombrables
1 pour 500.000 . . .	4 à 5 jours	plus de 40.000
1 pour 1 million .	4 à 6 jours	17.000
1 pour 2 millions.	5 à 6 jours	3.000
1 pour 5 millions.	5 à 6 jours	1.600
1 pour 10 millions.	5 à 6 jours	600
1 pour 20 millions.	7 à 8 jours	270
1 pour 40 millions.	4 à 5 jours	180
1 pour 100 millions.	4 à 5 jours	60
1 pour 1 milliard.	Sur 6 souris, 4 meurent en 5 à 8 jours; 2 survivent.	10 à 30

II. — Infection par introduction de microbes dans la bouche.

Avec la même culture qui a servi à l'expérience précédente, on fait des dilutions dont 0,05 cent. cube correspond à 1 cent. cube des dilutions à 1 p. 2.500, 25.000, 250.000, 500.000 et 5 millions, et on introduit 0,05 cent. cube de cha-

cune de ces dilutions dans la bouche de chaque souris à l'aide d'une canule appropriée.

Exp. 2. DILUTIONS	NOMBRE DES SOURIS	RÉSULTATS
1 pour 2.500. . .	3	mortes en 4 à 8 jours.
1 pour 25.000. . .	3	mortes en 5 à 12 jours.
1 pour 250.000. . .	3	mortes en 5 à 12 jours.
1 pour 500.000. . .	13	5 souris mortes en 5 à 8 jours, 8 restent vivantes.
1 pour 5 millions .	13	toutes restent vivantes.

La dose minima mortelle serait donc un peu plus grande que 1 cent. cube d'une dilution à 1 p. 500.000, c'est-à-dire qu'il faut introduire dans la bouche de l'animal environ 40.000 microbes pour qu'un certain nombre de ces microbes (au moins 10 à 30) puissent pénétrer dans le sang et donner à l'animal une infection mortelle. Nous avons constaté, en effet, en prélevant et en ensemençant sur gélose quelques gouttes de sang de toutes les souris en expériences, que le sang des souris qui ont fini par succomber contenait toujours des microbes en plus ou moins grande quantité, tandis que celles qui ont survécu ont donné toujours des ensemencements stériles.

Il est donc plus que probable que les souris qui ont survécu ont réussi à détruire dans la bouche et dans le tube digestif tous les microbes ingérés et échappèrent ainsi à l'infection proprement dite.

Ces mêmes souris infectées à nouveau 15 jours plus tard de la même manière, mais avec une dose de microbes plus forte, ont succombé en même temps que les témoins.

III. — Infection avec du pain mouillé avec des cultures virulentes.

Une culture préparée de la même façon que précédemment est diluée à 1 p. 50, 500, 5.000, 50.000 et 500.000. On fait absorber 2 cent. cubes de chacune de ces dilutions par 2 petits cubes de pain et on donne à manger ces 2 petits cubes à chaque souris. Toutes les souris sont placées une à une dans des bocaux séparés, et privées de toute autre nourriture pendant 24 heures. Dans tous les bocaux le pain ainsi préparé a été mangé complètement.

Exp. 3.	DILUTIONS	NOMBRE DES SOURIS	RÉSULTATS
	—	—	—
	1/50	3 souris	mortes en 5 jours.
	1/500	3 souris	mortes en 5 jours.
	1/5.000	3 souris	mortes en 6 jours.
	1/50.000	3 souris	2 souris mortes en 6 jours, 1 souris reste vivante.
	1/500.000	3 souris	toutes restent vivantes.

La dose minima mortelle pour du virus mélangé avec du pain serait donc à peu près égale à 1 cent. cube d'une dilution à 1 p. 25.000, soit plusieurs millions de microbes. Il est donc certain que, dans ce cas, l'immense majorité de microbes périssent dans les différents changements de milieu qu'on leur fait subir, dans le pain avant que les souris l'aient mangé et ensuite dans le tube digestif.

Le nombre de microbes nécessaires pour tuer les souris par les différents modes d'infection que nous venons d'indiquer n'est, bien entendu, que très approximatif, et il n'est guère possible de chercher dans ces expériences une précision plus grande; mais on peut dire que, si pour l'infection par inoculation sous la peau la dose sûrement mortelle est de quelques unités, ou de quelques dizaines de microbes, il en faut quelques milliers pour produire le même effet, quand on introduit la culture telle quelle dans la bouche et quelques millions quand on la donne à manger avec du pain.

ESSAIS DE VACCINATION

Nous avons vu plus haut que les *bac. typhi murium* donnent aux petits rongeurs une maladie présentant quelques analogies avec la fièvre typhoïde ou paratyphoïde de l'homme; il nous a donc semblé intéressant de rechercher s'il est possible de vacciner ces animaux contre cette maladie ou les en guérir par un sérum spécifique, et surtout s'il est possible d'apprécier la valeur d'un vaccin ou d'un sérum pour une maladie naturelle d'après son action sur les maladies artificielles provoquées par l'inoculation du virus typhique sous la peau ou dans le péritoine.

De nombreuses expériences ont montré qu'il est possible de vacciner les cobayes contre une inoculation mortelle du *bac. d'Eberth* et qu'un sérum suffisamment actif peut les en guérir,

et Brückner [6] a pu vacciner avec succès les souris blanches contre un paratyphique B qui les tuait par injection sous-cutanée à la dose de 0,1 cent. cube de culture et était avirulent par ingestion. Brückner a nourri 16 souris pendant 9 jours de suite, avec des aliments trempés dans une culture de ce paratyphique B. Une seule souris a succombé pendant la vaccination et son sang a donné une culture de paratyphique.

Les survivantes et 10 souris témoins avaient été injectées ensuite avec une dose mortelle du même microbe. Une seule des souris traitées est morte en même temps que les témoins, toutes les autres ont survécu.

Les résultats que l'on obtient en cherchant à immuniser les souris ou les rats contre les paratyphiques naturellement pathogènes sont loin d'être aussi favorables.

Lœffler [7] a essayé d'abord de vacciner des souris en les nourrissant plus ou moins longtemps avec des émulsions de son *bac. typhi murium* chauffées à 70 degrés. Il a obtenu les résultats suivants :

8 souris ont reçu à manger ces émulsions 17 fois en 29 jours.

De ces 8 souris, 4 sont mortes pendant la vaccination, 1 avait été sacrifiée pour l'étude des propriétés agglutinantes de son sérum ; des 3 dernières, contaminées une première fois, 18 jours après la dernière vaccination, 1 a succombé le 11e jour, les 2 autres ont survécu à cette première infection, mais ont succombé à une deuxième contamination faite 7 jours après la première.

En même temps Lœffler vaccinait des campagnols par inoculation avec les mêmes microbes séchés et chauffés à sec à 120 degrés pendant 2 heures ou à 150 degrés pendant 1 heure.

Le produit ainsi obtenu s'est montré très toxique, une dose supérieure à 0,1 milligramme inoculée sous la peau tuait tous les campagnols.

Tous les animaux vaccinés deux fois à 3 semaines d'intervalle et contaminés 18 jours après la deuxième vaccination ont succombé en même temps que les témoins.

Le même savant à réussi plus tard [8] à vacciner avec succès quelques souris en leur injectant à plusieurs reprises un virus séché et tué par un chauffage à 75 degrés pendant 7 à 8 jours. Les souris ainsi traitées ont supporté ensuite 10 doses mortelles du même virus vivant inoculé sous la peau, mais nous verrons

plus loin que le même traitement appliqué aux souris avec notre virus, nous a donné des résultats moins favorables.

Eijiro Yoshida [9] a cherché à immuniser les souris et les campagnols contre le *bac. typhi murium* de Lœffler en les nourrissant pendant 1 à 30 jours avec les cultures d'un paratyphique B vivantes, mais non virulentes.

Sur 24 souris ainsi traitées, 7 ont résisté à une première infection et 3 de ces 7 à une deuxième infection.

La même expérience répétée avec le paratyphique A et le *bac. d'Eberth*, pris comme vaccins, lui a donné toujours des résultats négatifs.

Les essais de vaccination par des injections sous-cutanées, répétées 3 fois à 10 jours d'intervalle, du même paratyphique B, n'ont donné aucun résultat quand on infectait les souris par la bouche, mais ont permis de sauver quelques souris inoculées sous la peau.

Mlle Edna Steinhardt et M. Th. Tournoy [10] ont fait sur le même sujet une longue série d'expériences avec le *bac. Danysz*.

Ils ont trouvé qu'il est impossible de vacciner les souris, mais que l'on peut immuniser une certaine proportion de rats.

Les résultats de ces expériences indiquent donc nettement que, s'il est possible d'immuniser les souris contre un virus qui ne les tue que par inoculation sous la peau, il est presque impossible de les vacciner contre un microbe naturellement pathogène et que, dans ce dernier cas, l'infection par la bouche est aussi dangereuse que l'infection par inoculation sous la peau.

Toutefois, en considérant la très grande virulence du *bac. typhi murium* pour les petits rongeurs, nous avons pensé que, dans les travaux que nous venons de résumer, on n'a pas suffisamment tenu compte de ce fait et il nous a semblé intéressant de répéter ces expériences, en éprouvant les animaux traités par des vaccins, par des doses *limites mortelles* (exp. 1, 2 et 3), pour nous rapprocher autant que possible des conditions dans lesquelles un animal peut s'infecter normalement.

Nous avons donc traité des séries de souris blanches par tous les vaccins découverts jusqu'à présent et essayés dans la fièvre typhoïde et notamment :

1° Cultures chauffées en bouillon ou en émulsion dans l'eau physiologique (méthode de Chantemesse) ;

2° Cultures tuées par l'éther (méthode de Vincent);
3° Cultures sensibilisées (méthode de Besredka);
4° Cultures séchées et chauffées à sec (méthode de Lœffler).

Vaccination avec des cultures ou émulsions chauffées. (*Méthode de Chantemesse.*)

1° *Traitement par une seule injection* d'une culture chauffée en ampoules scellées : *a*) pendant 1 heure à 60 degrés; *b*) pendant 15 minutes à 75 degrés ; *c*) pendant 5 minutes à 100 degrés.

On prépare la même série de vaccins avec une culture en bouillon de 24 heures et, pour éviter les effets toxiques de la peptone, avec une émulsion dans l'eau physiologique d'une culture sur gélose, en prenant soin d'avoir la même quantité de microbes dans les deux cas.

Exp. 4. — *Les doses injectées* étaient de 0,1, 0,2, 0,4, 0,6 et 0,8 cent. cube. Pour chaque dose on a pris 2 souris pour la culture en bouillon et 2 souris pour l'émulsion dans l'eau physiologique, — soit 20 souris en tout.

Toutes les souris ont très bien supporté ces injections.

Résultats. — On éprouve 20 jours après, 10 souris par infection par la bouche et 10 souris par inoculation sous la peau. Dans les deux cas, les doses d'épreuve étaient *minima* mortelles.

Résultats. — Les souris traitées sont mortes en même temps que les témoins.

2° *Traitement par deux injections.*

Exp. 5. — On traite 20 souris exactement dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente, avec cette seule différence qu elles reçoivent 2 injections de vaccin à 15 jours d'intervalle.

Résultats. — Toutes ces souris éprouvées 20 jours après la 2e injection meurent, quelques-unes avec un léger retard sur les témoins.

3° *Le traitement des souris par 3 injections* répétées à 15 et 20 jours d'intervalle n'a pas eu plus de succès (Exp. 6).

Exp. 7. — Dix souris sont nourries pendant 10 jours de suite avec de grandes quantités de microbes tués par un chauffage à 65 degrés pendant 1 heure.

Toutes ces souris ont succombé en même temps que les témoins.

Vaccination avec des cultures tuées par l'éther. (*Méthode de Vincent.*)

Les cultures tuées par l'éther se sont montrées plus toxiques que celles tuées par la chaleur en ampoules scellées. Les doses

de 0,1 cent. cube dans le péritoine et de 0,5 cent. cube sous la peau tuent toutes les souris.

Exp. 8. — Une série de souris sont injectées sous la peau, deux fois à 20 jours d'intervalle, avec 0,1 cent. cube de vaccin, d'autres avec 0,2 cent. cube du même vaccin.

Toutes supportent bien ce traitement.

Résultats. — Une première épreuve (contamination par la bouche avec une dose minima mortelle), faite 25 jours après la dernière injection donne 2 souris mortes sur 6, de celles qui ont reçu deux injections de 0,1 cent. cube de vaccin et toutes celles qui ont reçu 0,2 cent. cube de vaccin.

Les 4 souris qui survivent sont éprouvées 20 jours après par une dose de virus un peu plus forte et meurent en même temps que les témoins.

Vaccination avec des microbes séchés et tués par une chaleur sèche de 75 degrés. (*Méthode de Lœffler.*)

Nous avons vu plus haut que Lœffler préparait son vaccin en chauffant le virus, préalablement séché à 75 degrés pendant 7 à 8 jours.

Nous avons constaté que les microbes provenant d'un raclage d'une culture sur gélose, séchés dans le vide sur de l'acide sulfurique et chauffés ensuite à 75 degrés à sec, n'ont jamais pu être tués en si peu de temps, — et que le temps nécessaire pour tuer sûrement tous les microbes dépendait de l'épaisseur de la couche de microbes soumis à ce traitement. Ainsi, il fallait 12 jours pour tuer 1 centigramme de microbes étalés sur une plaque de verre, 15 jours pour 1 décigramme et 35 jours de chauffage pour tuer 1 gramme de microbes étalés de la même façon sur une plaque de verre.

Beaucoup de précision et un contrôle très rigoureux sont donc nécessaires pour préparer ce vaccin qui, bien préparé, n'est pas très toxique.

Les souris en supportent très bien 2 milligrammes en injection sous-cutanée.

Exp. 9. — On injecte deux fois de suite à 15 jours d'intervalle 3 séries de souris avec 0,01 milligramme, 0,1 milligramme et 1 milligramme d'une culture chauffée à sec et émulsionnée ensuite dans l'eau physiologique.

Résultats. — Toutes ces souris sont éprouvées 20 jours après par une première ingestion avec une dose *limite* mortelle qui a tué 5 souris sur 6. Sur 9 souris vaccinées, 3 meurent en même temps que les témoins, 6 survivent. Ces dernières sont éprouvées une deuxième fois avec une dose dix fois plus forte, elles meurent toutes en même temps que les témoins.

VACCINATION AVEC DES MICROBES SENSIBILISÉS SÉCHÉS ET TUÉS ENSUITE PAR UNE CHALEUR SÈCHE DE 75 DEGRÉS. (*Méthode de Besredka modifiée.*)

Les essais de vaccination par les cultures virulentes sensibilisées à l'aide d'un sérum qui les agglutinait dans des dilutions à 1 p. 2.000 ne nous ont donné aucun résultat appréciable. Les microbes restaient toujours agglomérés, de sorte que, dans les dilutions plus fortes que 1 p. 10 millions, les mêmes quantités de liquide étaient tantôt mortelles, tantôt ne produisaient aucun effet, et, comme les souris qui ont bien supporté la première injection succombaient souvent à la seconde, il n'était guère possible de savoir si, à la première injection, elles ont bien reçu quelques microbes sous la peau ou non. D'ailleurs, toutes les souris qui ont survécu à une ou deux de ces injections sont mortes plus tard à la suite de l'infection d'épreuve.

Toutefois, comme la méthode de *Lœffler* semblait donner des résultats un peu meilleurs que les deux méthodes précédentes, nous avons eu l'idée de la combiner avec celle de *Besredka*, c'est-à-dire de dessécher et de chauffer à sec des microbes préalablement sensibilisés.

EXP. 10. — On injecte 9 souris, deux fois à 15 jours d'intervalle avec 0,01 milligramme, 0,1 milligramme et 1 milligramme du vaccin ainsi préparé

1re épreuve par infection par la bouche avec une dose *limite* mortelle : 1 souris meurt, 8 survivent.

2e épreuve, 17 jours après la précédente avec une dose de virus dix fois supérieure : 7 souris meurent en même temps que les témoins, *1 seule souris survit.*

De cette série d'expériences on peut donc conclure qu'avec les méthodes que nous venons d'indiquer, la vaccination des souris contre le bac. typhi murium, type B, n'est pas pratiquement possible; mais, en comparant les résultats obtenus par les quatre méthodes essayées, on est obligé de reconnaître que c'est le virus chauffé à sec, et surtout le *virus chauffé à sec et préalablement sensibilisé, qui donne les résultats lès meilleurs.*

Les souris traitées par cette dernière méthode résistent, en effet, presque toutes à une première infection et une sur huit a

résisté à une deuxième infection plus sévère, tandis que le virus chauffé en ampoules a donné des résultats absolument négatifs et le virus tué par l'éther n'a vacciné que 2 souris sur 12 contre une première infection, mais n'a empêché la mort d'aucune des survivantes soumises à une deuxième infection plus sévère.

VACCINATION DE RATS

Les résultats à peu près négatifs de nos essais de vaccination de souris sont dus probablement à ce fait que les souris sont d'une sensibilité pour ainsi dire absolue à l'action de ce virus. L'injection de quelques microbes suffit pour les tuer et, sur des milliers de souris que nous avons sacrifiées pour les essais de virulence de nos cultures, nous n'en avons pas vu une seule *guérir* après une infection certaine, — c'est-à-dire après que son sang avait été envahi par les microbes.

Nous avons, par contre, observé quelquefois des cas de maladie incontestables suivis d'une guérison spontanée chez les rats, et il était naturel d'en conclure que ces animaux, capables de combattre victorieusement cette infection, seraient aussi plus faciles à vacciner que les souris.

La virulence de nos cultures pour les rats est de beaucoup moindre que pour les souris, et, comme les rats d'égout que l'on peut se procurer à Paris ont pu vivre dans des milieux fort différents et acquérir des sensibilités aux infections très variables, un dosage de la virulence aussi exact que celui que nous avons établi pour les souris était à peu près impossible.

Toutefois, une longue série d'essais nous a permis de constater qu'une dose de 0,01 cent. cube d'une culture de 24 heures inoculée sous la peau était sûrement mortelle, et qu'une dose de 0,4 cent. cube de la même culture introduite dans la bouche tuait 95 rats sur 100.

Contrairement à ce que nous avons vu chez les souris, les humeurs de rats sont donc capables de détruire un grand nombre de microbes, fait que nous avons pu confirmer en soumettant ces derniers *in vitro* à l'action du sérum de souris et du sérum de rat. — Nous avons constaté que le sérum de souris favorisait le développement des microbes, tandis que le sérum de rats s'est montré fortement bactéricide.

Vaccination par des cultures chauffées en ampoules pendant une heure à 60 degrés.

Exp. 11. — 10 rats gris reçoivent sous la peau 0,1 cent. cube de vaccin deux fois de suite à 15 jours d'intervalle.

Éprouvés 15 jours plus tard, ils meurent tous en 2 à 21 jours.

Vaccination par les cultures tuées par l'éther.

Exp. 12. — L'expérience faite exactement dans les mêmes conditions que la précédente a donné aussi exactement les mêmes résultats.

Ces deux modes de vaccination ont donc donné des résultats complètement négatifs.

Vaccination par des microbes séchés et chauffés à sec.

Exp. 13. — 10 rats reçoivent sous la peau deux injections, à 15 jours d'intervalle, de 4 milligrammes de culture séchée et chauffée pendant 35 jours à 75 degrés.

Pour éprouver la toxicité de ce vaccin, on injecte à 3 rats, une seule fois, respectivement 4, 6 et 10 centigrammes de la même culture.

Ces doses énormes sont très bien supportées, les animaux inoculés présentent des œdèmes plus ou moins étendus à l'endroit de l'injection, mais ces réactions locales ne sont pas douloureuses et ne sont le siège d'aucun processus inflammatoire.

Tous ces rats sont éprouvés : les 10 premiers 20 jours après la deuxième injection, les 3 derniers 35 jours après l'injection du vaccin. Ils reçoivent tous 0,4 cent. cube d'une culture de 24 heures dans la bouche.

Des 10 premiers, 8 rats meurent en 8 à 11 jours, 2 survivent, des 3 derniers 1 survit.

Vaccination par injection d'une faible dose de culture vivante.

Exp. 14. — 10 rats reçoivent dans la bouche 0,1 cent. cube d'une dilution au centième d'une culture de 24 heures. Un de ces rats meurt 3 jours, un autre 19 jours après cette injection. Tous les deux ont du virus dans le sang.

Les 8 survivants sont éprouvés 25 jours après l'injection par 0,4 cent. cube d'une culture de 24 heures dans la bouche. 4 de ces rats meurent en 2, 4, 8 et 13 jours, les 4 autres survivent.

Cette méthode de vaccination (virus vivant) donne donc des résultats moins bons que la vaccination par les microbes séchés et tués par la chaleur sèche et présente, en outre, l'inconvénient d'être moins précise. Il est impossible de savoir si les rats qui ont résisté à l'épreuve n'étaient pas réfractaires à l'action du virus.

Les essais de traitement préventif ou curatif des souris par un sérum d'animaux fortement immunisés n'ont pas eu de résultats plus heureux que les essais de vaccination. Les sérums de chèvres et de lapins immunisés pendant plus de six mois par des cultures mortes d'abord, et ensuite par des cultures vivantes injectées dans les veines, ne préservait pas les souris à la dose de 1 cent. cube contre une infection simplement mortelle.

VACCINATION DES COBAYES

Pour terminer cette étude, il nous a semblé important d'essayer de vacciner contre ce même paratyphique les cobayes qui, ainsi que nous l'avons vu plus haut, sont complètement réfractaires à l'infection par la bouche et assez sensibles à l'inoculation des microbes dans le péritoine.

Exp. 15. — *Virulence du virus normal.* 5 cobayes de 350 à 400 grammes reçoivent dans le péritoine, respectivement, 1, 0,8, 0,6, 0,4 et 0,1 cent. cube d'une culture en bouillon de 24 heures. Ils meurent, le 1er en 24 heures, les 4 autres en 2, 4, 5 et 6 jours.

Exp. 16. — *Virulence du virus sensibilisé.* 5 cobayes reçoivent chacun 0,1 cent. cube; 4 autres, respectivement, 1, 2, 3 et 5 cent. cubes de virus sensibilisé.

Des 5 premiers, 2 meurent en 6 et 8 jours, 3 survivent.

Les 4 autres meurent en 3, 4, 5 et 6 jours.

Les 3 survivants et 2 témoins reçoivent, 15 jours plus tard, 0,2 cent. cube de virus normal dans le péritoine.

Les cobayes vaccinés survivent, les témoins succombent en 5 et 6 jours.

Ainsi, il a suffi d'une seule injection, il est vrai assez sévère, de virus sensibilisé pour immuniser les cobayes contre une dose sûrement mortelle. Dans ce cas, la vaccination est donc relativement très facile et nous avons constaté aussi qu'il est assez facile d'immuniser les lapins par 1 ou 2 injections de cultures mortes sous la peau contre l'inoculation consécutive de virus vivant dans les veines.

La facilité d'immunisation des animaux *naturellement réfractaires* à une maladie contre une péritonite ou une septi-

cémie artificielle ne permet donc pas de conclure à la possibilité de vaccination par les mêmes méthodes des animaux *naturellement sensibles* à la même maladie.

Conclusions.

1° Il est impossible de vacciner les souris par les méthodes connues jusqu'à présent contre le *bac. typhi murium, type B*, ni de les guérir par un sérum spécifique.

2° On pourrait supposer que cette impossibilité de vaccination est due au manque absolu des moyens de défense naturels de l'organisme de la souris contre l'action du microbe; mais, comme il est presque tout aussi difficile de vacciner les rats, animaux bien moins sensibles, on est obligé d'en conclure que ce fait est dû à une particularité inhérente à la nature du microbe.

3° Il est très facile de vacciner les animaux (cobayes et lapins) réfractaires à l'infection par la bouche ou par piqûre sous la peau contre les inoculations mortelles dans le péritoine ou dans les veines.

4° Il faut donc conclure que la possibilité de l'immunisation des animaux naturellement réfractaires à une maladie contre une infection provoquée artificiellement ne permet pas de conclure qu'il sera possible d'immuniser par les mêmes méthodes les animaux naturellement sensibles à la même maladie.

BIBLIOGRAPHIE

1. Mühleus, Dahm und Fürst. — Untersuchungen über Bacterien der Enteritisgruppe, etc. *Centralbl. f Bakt.* Orig., Bd XLVIII, 1908.

2. K. Hurler. — Vergleichende Untersuchungen über den B. paratyph. B, den Bac. enteridis und die Rattenbacillen Danysz, Dunbar, Issatchenko, Neumann. *Centralbl. f. Bakt.* Orig., Bd LXIII, p. 341.

3. J. Danysz. — Un microbe pathogène pour les rats. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1900, p. 193.

4. Dujardin-Beaumetz. — Transmission de la péripneumonie des bovidés aux espèces ovine et caprine. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1906, p. 449.

5. S. S. Mereschkowsky. — Ein neuer Närboden auf dem der Bac. Danysz selbst nach langdauernden, fortlaufenden Ueberimpfungen seine Virulenz nicht verliert. *Centralbl. f. Bakt.* Orig., Bd LXV, 1912, p. 393, 400 et 482.

5. S. Mereschkowsky. — Die Beeinflüssung der Virulenz des Bac. Danysz durch fortlaufende Ueberimpfungen in Bouillon. *Centralbl. f. Bakt.* Orig., Bd LXII, 1912, p. 64.

6. G. Brückner. — Ueber orale Immunisirungsversuche, *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.* Orig., Bd VIII, 9 janvier 1911, p. 439.

7. F. Loeffler. — Ueber Immunisierung per os. *Leuthold Festschr.*, Bd I.

8. F. Loeffler. — Die Verwendung von trockenerhitzten Microorganismen, etc. *Deutsche med. Woch.*, 29 mai 1913, p. 1025.

9. Eijiro Yoshida. — Ueber Immunisierung per os. *Arch. f. Hyg.*, Bd LXIX, 1909, p. 21.

10. Edna Steinhardt and Thomas Flournoy. — The effect of specific vaccines on Rat Typhoid. *The Journal of infectious Diseases.* Vol. IX, 1911, p. 229.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

29e ANNÉE FÉVRIER 1915 N° 2

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

LES LEISHMANIOSES CHEZ LES ANIMAUX

par A. LAVERAN.

(Avec les planches I et II.)

IV. — INFECTIONS NATURELLES OU EXPÉRIMENTALES PRODUITES CHEZ DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES PAR LA LEISHMANIA TROPICA (1)

A. — Infection naturelle du chien par la Leishmania tropica.

Plusieurs observateurs ont signalé l'existence chez les chiens, dans les pays où le bouton d'Orient est endémique, de lésions cutanées analogues à celles qu'on observe chez l'homme et, dans un certain nombre de cas, il a été démontré que ces lésions étaient dues à la présence de *Leishmania tropica* ou d'une *Leishmania* très voisine de cette espèce.

Les chiens de Delhi (Inde) présentent assez souvent des ulcères qui rappellent ceux que produit chez l'homme le bouton de Delhi ; James a trouvé dans le pus de ces ulcères des spirilles en grand nombre qui sont peut-être les agents de la maladie (2).

Dschunkowsky et Luhs ont observé, en Transcaucasie, un

(1) Voir pour les premières parties du travail ces *Annales*, t. XXVIII, p. 823 et p. 885 et t. XXIX, p. 1.
(2) S.-P. James, *Scientific Mem. by Offic. of the med. a. sanit. Dep. of the Gov. of India*, 1905, N. S., n° 13.

chien très amaigri et anémié qui avait des ulcérations de la peau et des muqueuses; des *Leishmania* nombreuses existaient dans la rate, dans le foie et surtout dans la moelle osseuse; les auteurs ont recherché en vain ces parasites dans les ulcérations (1).

Neligan, le premier, a démontré qu'on observe chez le chien des lésions cutanées produites par une *Leishmania*. A Téhéran, le bouton d'Orient est commun chez le chien, comme chez l'homme, mais chez les chiens les *Leishmania* ne se trouvent pas seulement dans les lésions cutanées, elles se montrent aussi dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse (2). S'agit-il d'une infection généralisée par *L. tropica* ou d'une infection mixte par *L. tropica* et par *L. Donovani*? Neligan pose la question. Une infection généralisée produite par la *L. tropica* semble peu probable; d'autre part, il est difficile de croire à une association, chez le chien, des infections dues à *L. tropica* et à *L. Donovani*, alors que cette association ne s'observe jamais chez l'homme. Il y a une troisième hypothèse à faire, c'est que, peut-être, la leishmaniose cutanée du chien est produite par une troisième espèce de *Leishmania*, ou du moins par une variété de la *L. tropica*; on verra plus loin que cette hypothèse a été faite.

Pedroso a observé, au mois de juillet 1912, dans la région nord-ouest du Brésil, 2 chiens qui avaient des ulcérations de la muqueuse nasale (3). L'un des chiens a été trouvé dans un village où il n'y avait qu'un cas de leishmaniose chez l'homme; le malade était atteint d'ulcérations du nez et de la gorge dont le début remontait à 5 années. Le chien était en mauvais état, il portait, en outre de l'ulcération siégeant sur les bords de la narine gauche, des ulcérations cutanées; des frottis faits avec le produit du raclage de l'ulcération nasale permirent de constater l'existence de nombreuses *Leishmania*, identiques à celles du malade. Le maître de l'autre chien avait un ulcère du pied diagnostiqué leishmaniose, et il faisait

(1) E. Dschunkowsky et J. Luhs, *IXe Congrès internat. de méd. vétér.*, La Haye, septembre 1909.

(2) A.-R. Neligan, *Jl. of trop. med.*, 15 mai 1913 et C.-M. Wenyon, *Transact. of the Soc. of trop. med. a. hyg.*, juin 1914, t. VII, p. 215.

(3) A.-M. Pedroso, *Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia*, septembre 1913.

lécher cet ulcère par son chien qui se serait infecté ainsi directement, mais il est à noter que, dans ce second cas, l'examen histologique de l'ulcération nasale du chien n'a pas été fait, et que le diagnostic ne repose que sur l'aspect macroscopique de cette ulcération et sur les circonstances étiologiques.

G. Vianna qui a examiné une coupe de la peau du nez du premier chien de Pedroso, infecté de leishmaniose, dit avoir vu des *Leishmania* dans les muscles lisses d'une artériole; d'après lui, la *L. brasiliensis* serait voisine du *Schizotrypanum Cruzi* (1).

Yakimoff et Schokhor ont publié l'observation d'un chien du Turkestan qui était atteint de leishmaniose cutanée (2). Le chien, très amaigri, au poil rare, avait une conjonctivite purulente et présentait des ulcères sur le dos et sur un côté du cou. Les *Leishmania* trouvées dans les ulcérations atteignaient parfois 7 μ 85 de long, sur 2 μ 35 de large, dimensions de beaucoup supérieures à celles de la *L. tropica*; les auteurs proposent de donner à l'agent de la leishmaniose cutanée du chien au Turkestan le nom de *L. tropica* var. *canina*.

En somme, la leishmaniose cutanée naturelle du chien est rare, et quelques-uns des faits signalés semblent se rapporter à une ou à plusieurs *Leishmania* différant de *L. tropica*. Nous allons voir cependant que la *L. tropica* est inoculable au chien.

B. — Infections expérimentales produites chez différentes espèces animales par la Leishmania tropica.

Chien. — Le bouton d'Orient est inoculable de l'homme au chien (3). 4 chiens inoculés par Nicolle et Manceaux sur des malades qui avaient contracté leurs boutons en Tunisie se sont infectés. Les inoculations intradermiques avaient porté sur le front, sur le nez ou sur l'une des paupières supérieures

(1) Gaspar Vianna, *Memorias do Inst. Oswaldo Cruz*, 1914, t. VI, p. 40.
(2) W.-L. Yakimoff et N.-L. Schokhor, *Soc. de path. exotique*, 11 mars 1914.
(3) C. Nicolle et L. Manceaux, *Acad. des Sciences*, 4 avril 1910, et *Annales de l'Inst. Pasteur*, septembre 1910.

des chiens. Après une incubation de 36 à 37 jours, on vit apparaître, aux points d'inoculation, des boutons indurés qui présentèrent une évolution tout à fait comparable à celle des boutons d'Orient chez l'homme, d'une durée de 20 à 63 jours. On trouvait, à l'examen histologique des boutons, des *Leishmania* typiques et l'ensemencement donnait des cultures de flagellés.

L'inoculation, dans le péritoine du chien, de grandes quantités de cultures de *L. tropica* n'a rien donné; un chien de 6 kilogrammes qui avait reçu chaque jour, pendant 5 jours, dans la cavité péritonéale ou dans le foie, 20 cultures de *L. tropica*, soit 100 cultures, ne s'est pas infecté; 3 mois après les inoculations, le chien a été sacrifié et on n'a trouvé aucune *Leishmania* dans les viscères ni dans la moelle osseuse.

L'inoculation, dans la peau du nez d'un chien, de cultures du bouton d'Orient du chien, a donné un résultat positif; après une incubation de 80 jours, on a vu apparaître 2 boutons.

Une première atteinte du bouton laisse à sa suite, chez le chien, un état d'immunité évident, écrivent Nicolle et Manceaux, mais ce résultat n'est obtenu que si la guérison du premier bouton est complète; si la guérison est incomplète ou trop récente au moment de l'inoculation d'épreuve, il y a, au contraire, sensibilisation et la période d'incubation est raccourcie. Chez un chien réinoculé le lendemain de l'apparition de son premier bouton, il y a eu réinfection rapide (incubation 8 jours) et grave; un autre chien réinoculé avec son propre bouton en pleine activité a été réinfecté.

Dans un travail postérieur, C. Nicolle et L. Manceaux constatent que l'immunité conférée par une première inoculation expérimentale de *L. tropica* ne paraît ni bien solide ni bien durable chez le chien (1); ils citent l'exemple d'un chien guéri d'un double bouton qui, inoculé 5 mois et demi plus tard avec le virus humain, a présenté, après une incubation de 28 jours, un bouton très net, alors qu'un singe et un chien neufs, inoculés dans les mêmes conditions, ne s'infectaient pas.

Nicolle et Manceaux ont obtenu des passages en série du bouton d'Orient de chien à chien et de singe à chien, ce qui

(1) C. Nicolle et L. Manceaux, *Soc. de path. exotique*, 8 mars 1911.

leur a permis de garder le virus pendant plus d'une année au laboratoire.

Wenyon a réussi à inoculer à un chien la leishmaniose cutanée américaine, par introduction directe dans le derme du virus humain; un jeune chien, inoculé dans la veine, ne s'est pas infecté (1).

J'ai inoculé sans succès 2 chiens avec une culture de *L. tropica* obtenue d'un bouton de Delhi qui m'avait été envoyée de l'Inde par le Dr Row; les premières inoculations avaient été pratiquées en différents points du corps, dans le derme ou dans le tissu conjonctif sous-cutané; des injections de fortes doses de cultures faites ensuite dans les veines restèrent aussi sans résultat.

J'ai obtenu, au contraire, de beaux boutons chez les chiens en les inoculant sur des rats ou des souris infectés avec la *L. tropica* d'origine africaine, comme le prouve l'observation résumée ci-après.

Le mode le plus pratique d'inoculation du bouton d'Orient chez le chien me paraît être le suivant : on rase la base d'une oreille et, avec un vaccinostyle chargé de virus, on fait 2 à 3 piqûres dans le derme. On peut aussi, chez les jeunes chiens dont la peau n'est pas dure, faire des inoculations à la face externe de la cuisse préalablement rasée.

Le chien qui fait l'objet de l'observation suivante a été présenté à la Société de pathologie exotique dans la séance du 9 décembre 1914.

Un chien âgé de 4 mois est inoculé, le 30 octobre 1914, avec le produit du broyage d'un testicule de rat contenant des *Leishmania* en grand nombre ; à l'aide d'un vaccinostyle chargé de virus je fais 3 piqûres à la base de l'oreille droite préalablement rasée. — 7 novembre, on ne constate encore rien aux points d'inoculation ; je réinocule le chien avec le testicule d'une souris contenant des *Leishmania* en grand nombre ; à l'aide d'un vaccinostyle chargé de virus, je fais 3 piqûres à la base de l'oreille gauche préalablement rasée, et avec la seringue de Pravaz j'injecte dans le derme, en 3 points de la face externe de la cuisse gauche, quelques gouttes du produit du broyage du testicule de la souris dilué dans l'eau physiologique. — 13 novembre, on sent un petit nodule à la base de l'oreille droite, au niveau d'une des piqûres d'inoculation. — 24 novembre, le nodule cutané de la base de l'oreille droite a grossi, il a le volume d'un grain de chènevis. La peau de la cuisse gauche,

(1) C.-M. Wenyon, *Jl. London School of trop. medicine*, avril 1913.

à la face externe, est épaissie et indurée au niveau des points d'inoculation. — 26 novembre, le bouton de l'oreille droite est ponctionné et dans le frottis fait avec le produit de la ponction je constate l'existence de *Leishmania* en grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques qui en sont souvent bourrés. — 29 novembre, le bouton de l'oreille droite a grossi, il a le volume d'un pois, il se forme de petites croûtes à la partie saillante ; on sent à côté un autre nodule, très petit. — 3 décembre, le premier bouton de l'oreille droite a pris le volume d'un gros pois et le deuxième bouton grossit. A la cuisse gauche, l'épaississement et l'induration de la peau augmentent aux points d'inoculation, sans qu'on sente des boutons distincts comme à l'oreille. — 4 décembre, on sent un nodule à la base de l'oreille gauche au niveau d'un des points d'inoculation. Je ponctionne les 2 boutons de l'oreille droite et je constate, dans les produits des ponctions, l'existence de *Leishmania* en grand nombre. Je fends le plus gros bouton de l'oreille droite et, avec le produit de grattage, j'inocule un chien à l'oreille et à la cuisse droites. — 6 décembre, le bouton incisé suppure ; un troisième bouton s'est développé à l'oreille droite ; le bouton de l'oreille gauche grossit. — 10 décembre, des croûtes se forment à la surface des boutons de l'oreille droite et, au-dessous, on trouve un peu de pus. A la cuisse gauche, il existe des indurations de la peau au niveau des points d'inoculation. Une ponction faite au niveau d'une de ces indurations donne une goutte de sérosité sanguinolente, contenant des *Leishmania* en assez grand nombre. Une goutte d'exsudat recueillie à la surface d'un bouton ulcéré de l'oreille droite montre des *Leishmania* nombreuses, et en bon état, malgré l'existence de la suppuration. — 12 décembre. Les boutons de l'oreille droite sont toujours couverts de croûtes. Le bouton de l'oreille gauche a augmenté de volume. On sent très nettement 3 boutons à la cuisse gauche, aux points d'inoculation. — 28 décembre. Les boutons de l'oreille droite sont en bonne voie de cicatrisation ; la sérosité fournie par un de ces boutons ne contient plus de *Leishmania*. Les boutons de l'oreille et de la cuisse gauches diminuent de volume. — 20 janvier 1915, tous les boutons sont en bonne voie de régression.

Le chien inoculé le 4 décembre 1914 sur le précédent présente, à la date du 20 janvier 1915, un bouton de la grosseur d'un grain de chènevis à l'un des points d'inoculation de l'oreille droite. Une ponction de ce bouton donne une goutte de sérosité sanguinolente contenant des *Leishmania* non rares.

Une jeune chienne inoculée, comme le chien qui fait l'objet de l'observation précédente sur une souris infectée de *L. tropica* (V. plus loin Souris) a présenté également de beaux boutons avec *Leishmania* nombreuses.

Chat. — Un chat inoculé directement par Wenyon avec le virus emprunté à un bouton d'Orient a eu 2 nodules avec *Leishmania*, aux points d'inoculation (1).

Nicolle et Manceaux ont inoculé sans succès 2 chats avec la *L. tropica*.

(1) C.-M. Wenyon, *Op. cit.*

Singes. — Nicolle et Sicre ont réussi, les premiers, à inoculer le bouton d'Orient au singe (1). Un *Macacus sinicus* a été inoculé, le 25 mars 1908, sur un chamelier nègre atteint depuis trois mois de boutons d'Orient contractés à Tébessa (Algérie) ; les inoculations intradermiques ont été faites dans les régions suivantes : paupières supérieures, arcades sourcilières et racine du nez.

Les lésions qui ont commencé à se montrer le 19 avril, 24 jours après l'inoculation, sont décrites comme il suit par MM. Nicolle et Sicre : « Du côté de l'arcade sourcilière du côté droit, la seule lésion produite a été un petit élément de 3 à 4 millimètres de diamètre, rougeâtre, ferme et non douloureux ; le 1er mai, nous le trouvons légèrement excorié ; le 4 mai, il est complètement guéri.

« Les lésions des deux paupières et de la racine du nez ont présenté une évolution parallèle plus caractéristique et identique, sauf la durée, à celle du bouton d'Orient humain. Elles ont débuté par la production d'une petite tache rouge sombre avec induration très légère et très limitée de la peau. A cette tache a fait suite une papule rapidement couverte de fines squames. En augmentant de volume, la lésion a pris l'aspect d'un petit tubercule dur, bien limité, non douloureux à la pression. L'accroissement des boutons a continué jusqu'au 1er mai (13e jour), leurs caractères restant sensiblement les mêmes. Ces éléments mesurent alors de 6 à 8 millimètres de diamètre et l'on observe, autour d'eux, une très légère zone œdématiée et érythémateuse. Les jours suivants, les trois boutons ont commencé à suinter, probablement à la suite d'excoriations dues au grattage ; le liquide qui s'en écoule est clair ; il se concrète en petites croûtes jaunâtres. État stationnaire jusqu'au 4 mai. A cette date, l'aspect est celui du clou de Gafsa ulcéré ; lorsqu'on soulève la croûte, on trouve au-dessous une petite ulcération, à bords assez réguliers, et assez profonde. Une légère suppuration s'est ensuite établie, puis les lésions ont très rapidement évolué vers la guérison. Celle-ci était complète le 9 mai. Nous n'avons observé à la suite aucune

(1) C. Nicolle et A. Sicre, *Soc. de Biologie*, 20 juin 1908 et *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, juillet 1908.

cicatrice définitive. La durée de ces lésions a donc été de 21 jours. »

L'examen d'un petit fragment de tissu prélevé sur le bouton de la racine du nez a permis de constater l'existence de *Leishmania* typiques, et l'ensemencement du même bouton dans le milieu de Novy simplifié a donné une culture caractéristique de flagellés.

Nicolle et Manceaux ont inoculé avec succès au moyen du virus humain du bouton d'Orient : un *Macacus cynomolgus* (incubation 37 jours, durée du bouton 26 jours) ; un *M. rhesus* (incubation 101 jours, durée une dizaine de jours) ; un *M. inuus* (incubation 37 jours, durée 11 jours). 3 *M. sinicus* inoculés dans le derme, avec des cultures de la *L. tropica*, se sont également infectés (incubation 38 à 68 jours, durée des boutons 38 à 90 jours). Les lieux d'élection pour les inoculations intradermiques ou par scarifications superficielles de la peau sont, d'après Nicolle et Manceaux, les arcades orbitaires, la base du nez et les paupières supérieures (1).

Les inoculations faites dans la cavité péritonéale et dans le foie ont donné des résultats négatifs, malgré les fortes doses de cultures employées.

Avec le virus des boutons du singe, les auteurs ont pu obtenir l'inoculation du singe en série (3 passages) et, 2 fois, celle de l'homme ; dans un de ces cas, l'incubation a été exceptionnellement longue puisqu'elle a atteint 7 mois.

Le passage de singe à chien a aussi réussi.

Un singe réinoculé, 10 jours après guérison de son premier bouton expérimental, avec un virus très actif pour un témoin, ne s'est pas réinfecté.

Une première atteinte du bouton d'Orient confère au singe un certain degré de résistance, mais non une immunité complète, contre le virus du kala-azar (2).

« Une atteinte expérimentale de bouton d'Orient, écrit Nicolle, vaccine contre le bouton d'Orient, mais ne confère qu'un certain degré de résistance vis-à-vis du kala-azar ; une première atteinte du kala-azar vaccine contre le kala-azar et

(1) C. Nicolle et L. Manceaux, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, septembre 1910, t. XXIV, p. 682 et p. 699 et *Soc. de path. exotique*, 8 mars 1911.

(2) C. Nicolle et L. Manceaux, *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1909, p. 193.

contre le bouton d'Orient. Dans ces expériences, trop peu nombreuses pour que leur signification soit absolue, le virus du kala-azar semble se comporter par rapport à celui du bouton d'Orient, comme un virus fort par rapport à un virus faible » (1).

R. Row a inoculé un *Macacus sinicus*, par scarifications, avec un bouton humain de Cambay (Inde). Au bout de 2 mois, 3 petits nodules apparurent aux points d'inoculation; au bout de 15 jours, les nodules avaient le volume de têtes d'épingles. Un des nodules fut incisé et, dans le liquide séro-sanguinolent recueilli sur la surface de section, on trouva de nombreuses *Leishmania* plus grandes que celles des boutons humains. Le contenu d'un des boutons ensemencé donna une belle culture qui fut inoculée à un singe avec résultat négatif. Au contraire, des singes inoculés directement avec le contenu des boutons du premier singe s'infectèrent (2).

R. Row constate que les résultats de ses expériences diffèrent un peu de ceux qui ont été obtenus par Nicolle quant à la durée de l'incubation et des lésions, aux caractères des boutons et au nombre des parasites; ces différences paraissent être sans importance (3).

Le singe infecté par Row a pu être réinfecté avec le virus du bouton d'Orient un mois après l'apparition des premières lésions.

On a vu, dans une autre partie de ce travail, que R. Row avait réussi à produire des boutons chez des singes avec le virus du kala-azar indien, comme avec le virus du bouton d'Orient, ce qui tendrait à rapprocher la *L. Donovani* de la *L. tropica*.

Wenyon a inoculé un babouin avec la leishmaniose cutanée d'origine américaine (4).

F. Sant'Anna a infecté, avec le virus d'un cas de leishmaniose cutanée de l'Amazone, deux cercopithèques par inoculation dans la peau de la région sus-orbitaire. Chez un des singes, l'ulcère qui s'est développé au point d'inoculation a

(1) C. Nicolle, *Rapport au Congrès d'Hygiène et de Démographie de Washington*, sept. 1912 et *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1912, p. 221.
(2) R. Row, *Brit. med. Journal*, 24 septembre 1910, p. 867.
(3) W.-B. Leishman, *The quarterly Jl. of med.*, octobre 1911.
(4) C.-M. Wenyon, *Jl. London School of trop. med.*, juillet 1912.

guéri rapidement, l'autre singe a été atteint d'une ulcération qui s'est beaucoup étendue. Un singe inoculé sur le bord des narines, avec le virus emprunté à l'un des cercopithèques, s'est également infecté (1).

J'ai réussi à infecter des singes : 1° au moyen de cultures du bouton de Delhi que je devais à l'obligeance du Dr Row, de Bombay; 2° au moyen du virus fourni par des souris infectées avec des cultures de la *L. tropica* provenant de l'Institut Pasteur de Tunis.

6 *Macacus cynomolgus*, 2 *M. sinicus* et 1 *Cynocephalus* ont été inoculés avec les cultures du bouton de Delhi; les résultats des inoculations n'ont été positifs que chez un *M. sinicus* et chez un jeune *M. cynomolgus*.

Le procédé qui m'a donné les meilleurs résultats a consisté à inoculer dans le derme, à l'aide d'un vaccinostyle, une culture riche en flagellés. Dans les 2 cas où les inoculations ont réussi, j'avais employé des cultures des premiers passages du virus provenant de l'Inde; les repiquages multipliés ont diminué la virulence de la *L. tropica*.

Les inoculations ont été faites aux tempes ou à la face externe des cuisses; des inoculations faites sur les muqueuses (lèvres, orifices des fosses nasales) n'ont pas réussi.

En présentant à la Société de pathologie exotique, le 9 octobre 1912, les deux singes infectés, j'ai décrit, comme il suit, les symptômes observés (2).

Après une période d'incubation dont la durée n'a pas pu être fixée exactement, les 2 singes ayant été inoculés à plusieurs reprises, on a vu apparaître de petites indurations intradermiques aux points d'inoculation. « L'induration qui, au début, présente à peine le volume d'un grain de millet, peut acquérir celui d'un grain de chènevis ou même d'un pois; il n'y a ni rougeur inflammatoire, ni douleur apparente à la pression. Lorsque le bouton a pris le volume d'un grain de chènevis ou d'un pois, il s'acumine et, si on l'incise, on constate souvent qu'il existe sous l'épiderme une gouttelette d'un liquide épais, blanchâtre. Si l'incision est faite trop tôt, on ne trouve pas de

(1) F. Sant'Anna, *Medicina contemporanea*, 24 août 1913.
(2) A. Laveran, *Bull. de la Soc. de path. exotique*, t. V, p. 574.

gouttelette liquide, mais seulement un tissu dense qu'il faut gratter avec le scalpel pour obtenir la matière d'un frottis.

« Les boutons non incisés, comme les boutons incisés, se recouvrent d'ordinaire de petites croûtes brunâtres qui se détachent facilement en laissant voir des ulcérations sous-jacentes. Les boutons peuvent aussi se résorber.

« Dans les frottis faits avec les croûtes ou avec la sérosité sanguinolente sous-jacente, les *Leishmania* sont rares, elles sont, au contraire, nombreuses ou assez nombreuses dans les frottis faits avec le produit de raclage du fond des ulcérations. Les parasites sont presque toujours libres, probablement parce que le raclage détruit les éléments anatomiques dans lesquels ils étaient inclus; ils ont les dimensions et l'aspect caractéristique des *L. tropica*; on trouve des formes en voie de division. »

Je résume les observations des 2 macaques qui se sont infectés.

1° Un *M. sinicus* pesant 1 kilogr. 750 est inoculé, le 9 mai 1912, avec une culture de la *Leishmania* du bouton de Delhi; l'inoculation intradermique et sous-cutanée est faite à l'aide de la seringue de Pravaz à la face externe de la cuisse droite et à la lèvre inférieure. — 1er juin, il n'y a pas d'induration aux points d'inoculation. Les 1er et 13 juin, on réinocule le singe avec une belle culture de la même *Leishmania*, à l'aide d'un vaccinostyle qui se prête mieux que la seringue de Pravaz aux inoculations intradermiques; 3 piqûres sont faites à la tempe droite, 3 à la face externe de la cuisse droite. — 23 août, deux des piqûres faites à la tempe sont le siège de nodules très nets, faciles à constater surtout lorsqu'on pince la peau à ce niveau; l'une des piqûres faites à la cuisse est également le siège d'un nodule. — 30 août, les nodules de la tempe ont grossi. — 14 septembre, les nodules de la tempe et de la cuisse ont le volume de petits pois; le nodule de la cuisse recouvert d'une croûte a bien l'aspect d'un bouton d'Orient. — 16 septembre, après avoir enlevé la croûte qui recouvre le bouton de la cuisse, je fais des frottis avec le produit du grattage de l'ulcération mise à nu. Dans ces frottis on voit, après coloration, des *Leishmania* typiques, non rares. Les parasites sont rares dans les frottis faits avec la croûte qui recouvrait l'ulcération. — 19 septembre, les nodules de la tempe, très apparents (Planche I), ne se sont pas encore ulcérés; l'ulcération de la cuisse s'est un peu élargie, une croûte se reforme à sa surface. — 21 septembre, les boutons de la tempe se sont recouverts d'une croûte; dans les frottis faits avec le produit du grattage de ces boutons (après enlèvement des croûtelles), on trouve des *Leishmania* typiques, en petit nombre. — 30 septembre, les boutons de la tempe diminuent de volume; l'ulcération de la cuisse qui mesure 1 centimètre au moins de diamètre est recouverte d'une croûte épaisse, elle a tout à fait l'aspect d'un bouton d'Orient. — Les boutons de la tempe et de la cuisse diminuent assez rapidement de volume et les ulcérations se cicatrisent; la guérison est presque complète le 30 octobre; elle est complète le 20 novembre, au point de vue des lésions cutanées, mais l'état général devient mauvais; au mois de décembre, le singe maigrit beaucoup et meurt le 25 décembre 1912.

Poids du singe, 1 kilogr. 370. La rate, petite, ne pèse que 4 grammes. Pas d'altérations macroscopiques des viscères pouvant expliquer la mort. Dans les frottis de foie, de rate et de moelle osseuse, on trouve de gros diplocoques; il n'y a pas trace de *Leishmania.*

2° Un *M. cynomolgus,* né à la singerie de l'Institut Pasteur, le 8 août 1911, est inoculé à trois reprises, le 8 juin, le 13 juillet et le 31 août 1912, avec des cultures de la *Leishmania* du bouton de Delhi; chaque inoculation comprend 3 piqûres au vaccinostyle à la face externe de la cuisse droite et 3 piqûres à la tempe du côté droit. — 19 septembre, on note, pour la première fois, des nodules à la face externe de la cuisse droite et à la tempe droite, aux points d'inoculation. Les nodules ont la grosseur de grains de millet, ils sont intradermiques. — 25 septembre, les nodules ont grossi, ils atteignent le volume de grains de chènevis; on compte 3 nodules à la tempe droite, 2 à la face externe de la cuisse droite. J'incise un des nodules de la tempe et, avec le produit du grattage du derme épaissi, mis à nu, je fais un frottis dans lequel, après coloration, je constate l'existence de *Leishmania* nombreuses, libres, probablement parce que les éléments anatomiques qui les contenaient ont été détruits par le grattage. — 2 octobre, un nouvel examen du produit de grattage du nodule, déjà examiné le 25 septembre, montre des *Leishmania* typiques, assez nombreuses. — 4 octobre, un nouveau nodule s'est formé à la face externe de la cuisse droite. L'examen de frottis du contenu d'un nodule du front et d'un nodule de la cuisse montre des *Leishmania* typiques, mais plus rares que lors des examens précédents. — 12 octobre, les 3 boutons de la tempe et les 3 boutons de la cuisse qui se sont recouverts de petites croûtes brunâtres sont toujours très apparents. — 17 octobre, un frottis fait avec le produit de grattage d'un bouton de la cuisse montre des *Leishmania* nombreuses; un frottis d'un des boutons de la tempe montre des *Leishmania* non rares. — 24 octobre, les boutons de la tempe et de la cuisse sont encore très beaux, leur aspect est bien celui de boutons d'Orient. — 30 octobre, les boutons diminuent de volume, les petites ulcérations sous-jacentes aux croûtes tendent à se cicatriser; malgré cela, des frottis faits avec un bouton de la tempe et un bouton de la cuisse montrent encore des *Leishmania* non rares. — 14 novembre, les boutons sont encore recouverts de croûtes. — 27 novembre, bien que les boutons soient tous en voie de cicatrisation, on trouve encore des *Leishmania* nombreuses dans un frottis d'un bouton de la cuisse; non rares dans un frottis d'un bouton de la tempe. — Le singe qui a toujours été malingre et qui présente des déformations rachitiques du squelette est trouvé mort le 7 décembre 1912; il pèse 550 gr. La rate pèse 2 grammes. Les viscères ne montrent pas d'altérations macroscopiques. Le squelette du thorax et les os des membres inférieurs présentent des déformations rachitiques très prononcées. L'examen de frottis de la rate, du foie et de la moelle osseuse ne révèle l'existence d'aucune *Leishmania.* Des tubes du milieu de Novy simplifié ensemencés avec la rate restent stériles.

Avec le virus fourni par une souris infectée au moyen d'une culture de la *L. tropica* d'origine africaine, conservée à l'Institut Pasteur de Tunis, j'ai obtenu chez un *M. cynomolgus*, le seul qui fût à ma disposition, de très beaux boutons comme le prouve l'observation suivante.

3° Un *M. cynomolgus* femelle, du poids de 1 kilogr. 990, est inoculé le 15 octobre 1914 avec le virus fourni par le testicule droit de la souris qui fait plus loin l'objet de l'observation 4. Avec un vaccinostyle enduit de la matière virulente, je fais trois piqûres à la tempe droite, et je pratique, à la face externe de la cuisse droite, trois petites injections intra et sous-dermiques avec le produit du broyage du testicule, dilué dans un peu d'eau physiologique. — 24 octobre, à la face externe de la cuisse droite, deux des points d'inoculation, le supérieur et l'inférieur, sont le siège de nodosités intradermiques du volume de grains de chènevis. Rien d'anormal à la tempe droite. — 27 octobre, les deux nodosités de la cuisse ont grossi, elles se sont allongées suivant l'axe du membre; leur volume peut être comparé à celui de grains de blé. Les nodosités font une saillie très apparente; la peau a conservé son aspect normal. A la tempe droite, on distingue à l'œil et au palper trois petites nodosités; les deux plus grosses ont le volume de grains de chènevis. Avec une pipette fine, je ponctionne une des nodosités de la cuisse et je retire une parcelle d'une matière blanchâtre qui, examinée en frottis coloré, montre des *Leishmania* en très grand nombre, libres pour la plupart, au milieu de leucocytes mono ou polynucléés. — 1er novembre, les deux nodosités de la cuisse continuent à augmenter de volume en s'étalant, elles ont maintenant la grosseur de petites amandes et, dans l'intervalle, on distingue une troisième nodosité, plus petite, qui correspond au siège de la troisième inoculation. Les trois nodosités de la tempe ont augmenté un peu de volume. La ponction de la deuxième grosse nodosité de la cuisse donne, comme celle de la première, une gouttelette de matière blanchâtre contenant des *Leishmania* en grand nombre. — 3 novembre, les nodosités de la cuisse ont encore un peu augmenté de volume, elles forment des saillies visibles de loin; des croûtes commencent à se former à la surface, la peau brunit et se dessèche. Les nodules de la tempe diminuent de volume, des croûtelles brunâtres se sont formées aux parties saillantes; avec une de ces croûtelles que je détache, je fais un frottis dans lequel je trouve, au milieu de globules rouges et blancs, des *Leishmania* non rares. — 6 novembre, les boutons de la cuisse se couvrent de croûtes brunâtres au-dessous desquelles suinte un exsudat puriforme; une goutte de cet exsudat examinée ne contient pas de *Leishmania*. — 3 décembre, les boutons de la tempe sont complètement cicatrisés; les boutons de la cuisse sont encore apparents, mais la sérosité sanguinolente obtenue par ponction de ces boutons ne contient plus de *Leishmania*. — 21 décembre, la guérison des boutons pouvant être considérée comme complète, je réinocule le singe sur souris, dans les mêmes conditions que la première fois, mais du côté gauche. — 31 décembre, on constate aux points d'inoculation de petites élevures qui paraissent être inflammatoires; la ponction d'une de ces élevures donne une goutte de sang qui ne contient aucune *Leishmania*. — 11 janvier 1915, les petites élevures constatées à la suite de la seconde inoculation ont disparu complètement.

Il est à remarquer que, chez ce macaque, les 6 inoculations faites le 15 octobre ont donné lieu à des lésions cutanées comparables à celles du bouton d'Orient, et que l'incubation a été très courte, puisque 9 jours après l'inoculation on trouvait des nodosités au niveau des piqûres. Le virus de la souris utilisé dans cette expérience s'est montré plus actif que la culture de

la *Leishmania* du bouton de Delhi utilisée antérieurement ; les altérations cutanées produites par les deux virus ont présenté d'ailleurs la plus grande ressemblance.

Souris. — Delanoë a essayé sans succès d'infecter des souris en leur injectant, dans la cavité péritonéale, des cultures de *L. tropica* ; il a constaté que les flagellés devenaient rapidement la proie des phagocytes (1).

Wenyon a inoculé également sans succès des souris avec des cultures de *L. tropica* provenant d'un cas de leishmaniose cutanée d'Amérique, ou directement avec le virus du bouton (2).

Gonder a réussi, au contraire, à obtenir des infections chez les souris avec des cultures de *L. tropica* provenant de l'Institut Pasteur de Tunis et ayant subi de nombreux repiquages (3). Les cultures contenant, en grand nombre, des flagellés longs et minces se sont montrées plus virulentes que celles qui contenaient beaucoup de petites formes rondes ou ovalaires agglomérées. Le liquide de culture était mélangé à un peu d'eau physiologique et on injectait, à une souris de 20 grammes, 1 cent. cube du mélange, dans la veine ou dans le péritoine. L'injection des cultures pures dans la veine a entraîné plusieurs fois la mort des souris, après quelques minutes ou après quelques heures.

L'incubation avec la *L. tropica*, comme avec la *L. infantum*, est de plusieurs mois. Les premiers parasites ont pu être trouvés par ponction du foie, chez une souris, au bout de 1 mois ; au bout de 2 mois, chez une deuxième ; au bout de 3 à 4 mois, chez les autres.

Les souris infectées avec *L. tropica* ne montrent en général, dit Gonder, aucun symptôme pendant les premiers mois après l'inoculation, alors même que le foie et la rate sont parasités ; après 4 mois, on observe chez quelques animaux des signes très apparents, le ventre est ballonné, le foie et la rate sont hypertrophiés. Chez 2 souris qui ont succombé il y avait, dans le foie et dans la rate, une énorme quantité de parasites ; le foie avait 4 à 5 fois et la rate 10 à 12 fois le volume normal.

(1) P. Delanoë, *Soc. de Biologie*, 11 mars 1911.
(2) C.-M. Wenyon, *Jl. London School trop. Med.*, avril 1913.
(3) A. Gonder, *Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, 1913, t. XVII, p. 397.

Chez les autres souris, l'hypertrophie du foie et de la rate était moins marquée ; chez 2 souris, infectées cependant, il n'y avait pas d'hypertrophie du foie ni de la rate.

Chez 4 souris, Gonder a vu survenir, 4 mois après l'inoculation, de l'œdème des pattes ; dans la sérosité de ces œdèmes, on trouvait des *Leishmania* nombreuses, libres ou intracellulaires. Des œdèmes avec *Leishmania* se sont montrés aussi aux oreilles et à la queue ; au bout de quelques jours, les parties œdématiées se nécrosaient. 2 souris, qui, avant l'apparition des œdèmes, avaient montré à la ponction du foie des *Leishmania* assez nombreuses, n'avaient plus, après formation de ces œdèmes, que des parasites rares dans le foie. Le foie et la rate avaient l'aspect normal. Une troisième souris qui avait montré un fort œdème aux pattes, à la queue et aux oreilles avait encore des parasites dans le foie, elle n'en avait plus dans la rate. Une quatrième, qui avait des ulcérations produites par les *Leishmania*, montrait en même temps des hypertrophies du foie et de la rate avec un grand nombre de *Leishmania* dans ces viscères, comme dans les ulcérations. Chez aucune des souris la moelle osseuse ne contenait de parasites.

Les ulcérations ont pris souvent un grand développement. Chez une souris, une des pattes antérieures, chez une autre les oreilles furent détruites. La queue est particulièrement atteinte ; chez une souris elle était réduite à un petit lambeau de chair. L'infection secondaire par les bactéries aggrave les accidents. Ce sont les parties du corps les moins fournies de poils qui sont les plus frappées : pattes, queue, oreilles.

Gonder n'a pu produire aucune infection par la voie sous-cutanée, chez les souris, avec les cultures de la *L. tropica* ; au contraire, avec les émulsions d'organes infectés (foie et rate) et avec les émulsions d'ulcérations il a obtenu, par cette voie, de belles infections, après une incubation de 5 à 6 semaines.

Il n'y a pas de différence notable entre les altérations du foie et de la rate dans les infections provoquées chez les souris par la *L. tropica* ou la *L. infantum* (1). Au stade initial des infections, les *L. tropica* trouvées dans le foie atteindraient des

(1) Note du Dr Creutzfeld en *post-scriptum* au travail de Gonder.

dimensions plus grandes, d'après Gonder (jusqu'à 7 μ de long sur 4 μ de large), que les *L. infantum* (5 μ de long au maximum sur 3 μ 8 de large).

R. Row a constaté l'existence d'une leishmaniose généralisée chez une souris blanche dans le péritoine de laquelle il avait injecté, à quatre reprises, des cultures de *L. tropica* (1). Ces cultures provenaient de boutons de Cambay et de Bagdad; Row utilisait seulement des cultures de 4 à 7 semaines dans lesquelles on ne voyait plus que très peu ou point de formes flagellées. La souris, sacrifiée 9 mois et 13 jours après la première inoculation, avait des lésions du foie et de la rate identiques à celles qu'on observe chez les souris infectées par la *L. Donovani*; les *Leishmania* typiques abondaient dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse. Des parcelles du foie, de la rate et de la moelle osseuse, ensemencées dans le milieu de Novy simplifié, donnèrent des cultures de flagellés caractéristiques.

Il est à noter que la souris de Row n'a présenté aucune lésion tégumentaire.

Le Dr Row a bien voulu m'envoyer des préparations de la rate, du foie et de la moelle osseuse de cette souris; j'ai constaté l'existence de *Leishmania* typiques, nombreuses dans les frottis de rate et de moelle osseuse, plus rares dans les frottis du foie. Les parasites mesuraient 2 μ à 3 μ de long, sur 1 μ 25 à 2 μ de large.

Ed. Sergent a inoculé, à Alger, 6 souris blanches, dans la veine ou dans le péritoine, avec des cultures d'une *L. tropica* isolée d'un bouton de Biskra; 5 souris sacrifiées 4 mois après l'inoculation ont montré des infections généralisées, sans lésions cutanées; la sixième souris est restée indemne (2).

En 1912, j'ai essayé d'infecter des souris blanches avec la culture de *L. tropica* qui m'avait été envoyée de l'Inde par le Dr Row et qui provenait d'un bouton de Delhi; je me servais de cultures jeunes (de 12 à 15 jours) et les injections étaient faites sous la peau, dans le péritoine ou dans la veine. Sur 10 souris inoculées, à plusieurs reprises pour la plupart, aucune ne s'infecta.

(1) R. Row, *Soc. de path. exotique*, 8 avril 1914; *Indian Jl. med. Research*, avril 1914, p. 620.

(2) Ed. Sergent, *Soc. de path. exotique*, 13 janvier 1915.

En 1914, j'ai repris ces expériences en me servant cette fois de cultures de *L. tropica* provenant de l'Institut Pasteur de Tunis (de même origine par conséquent que celles utilisées par Gonder), et ayant subi, depuis l'année 1909, un grand nombre de repiquages (1).

Dans une première série d'expériences qui a porté sur 12 souris, le liquide de culture recueilli dans des tubes du milieu de Novy simplifié a été injecté pur, à plusieurs reprises, dans le péritoine des souris; suivant le conseil de Row, je me suis servi, non de cultures jeunes, mais de cultures âgées de 4 semaines environ dans lesquelles les formes sphériques ou ovalaires, peu mobiles, étaient plus nombreuses que les longues formes flagellées bien mobiles (2).

Dans une deuxième série d'expériences, j'ai inoculé des souris dans un des testicules avec quelques gouttes de la culture de *L. tropica.*

Dans une troisième série, j'ai inoculé des souris dans le péritoine ou sous la peau avec le produit du broyage des testicules d'un meriones ou de souris infectés de *Leishmania* au moyen de cultures.

Sur 8 souris mâles, inoculées dans le péritoine avec des cultures de *L. tropica*, 7 se sont infectées et ont présenté, après une incubation qui a été de plusieurs mois chez quelques-unes, des lésions caractéristiques ayant leur siège principal dans les testicules et dans le tissu cellulo-adipeux voisin.

On peut résumer comme il suit l'évolution de l'infection (Obs. 1 à 4). Les testicules augmentent de volume et s'indurent ainsi que le tissu cellulo-adipeux voisin; les testicules s'empâtent de plus en plus et il se forme, dans la région abdominale inférieure, une tumeur oblongue, transversale par rapport à l'axe longitudinal du corps, plus ou moins dure au toucher. De petites eschares cutanées se montrent souvent au niveau de la tumeur ou bien à la queue qui peut être détruite en entier. Lorsque, à l'aide d'une pipette fine, on ponctionne la tumeur, on en retire facilement une goutte d'une sérosité dans laquelle

(1) C. Nicolle et Ed. Chatton, *Soc. de path. exotique*, 9 décembre 1914.

(2) Les premiers résultats de ces expériences ont été communiqués à l'Académie des Sciences dans la séance du 5 octobre 1914 et à la Société de pathologie exotique dans la séance du 11 novembre 1914.

les *Leishmania* abondent. Chez les souris sacrifiées à une période avancée de l'infection, les testicules sont profondément altérés, hypertrophiés, déformés, indurés; la substance testiculaire fait place à un tissu lardacé, et les testicules sont plus ou moins englobés dans une masse néoplasique. A l'examen histologique, on trouve dans les testicules, comme dans la masse néoplasique qui les enserre, des *Leishmania* en quantité prodigieuse.

Sur 4 souris femelles inoculées, dans le péritoine, avec des cultures de *L. tropica*, 2 se sont infectées; une de ces souris a eu un bouton à la paroi abdominale, et l'infection locale s'est compliquée chez elle d'une infection générale (Obs. 5); l'autre souris infectée est encore vivante. Des deux souris notées comme non infectées, l'une qui est morte n'avait de *Leishmania* ni dans le tissu cellulo-adipeux sous-péritonéal, ni dans la rate, ni dans le foie, l'autre est encore vivante, mais ne présente aucun signe de leishmaniose.

Après avoir constaté que, chez les souris inoculées dans le péritoine avec des cultures de *L. tropica*, les parasites se multipliaient principalement dans les testicules, j'ai supposé, comme il était naturel, que l'inoculation directe dans les testicules réussirait mieux encore que l'inoculation intrapéritonéale, ce qui s'est vérifié.

5 souris inoculées, dans le testicule droit, avec quelques gouttes de culture de *L. tropica*, se sont toutes infectées. Les symptômes et les lésions ont été les mêmes qu'après l'inoculation intrapéritonéale, mais l'incubation a été beaucoup plus courte et l'évolution de l'infection a été plus rapide (Obs. 6).

Sur 9 souris mâles inoculées, dans le péritoine, avec le produit du broyage de testicules d'un meriones ou de souris infectés avec *L. tropica*, 7 ont présenté des lésions typiques localisées aux testicules et au tissu cellulo-adipeux voisin (Obs 10), 1 est encore en vie, avec infection douteuse, 1 est morte de septicémie. La recherche des *Leishmania* dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse a été négative chez toutes les souris de cette série autopsiées jusqu'ici.

De 2 souris femelles, inoculées dans les mêmes conditions que les précédentes, l'une est encore vivante et ne présente pas

de symptômes pouvant permettre d'affirmer l'existence de l'infection, l'autre est morte de septicémie.

De 4 souris mâles inoculées, dans une des cuisses, avec le produit du broyage de testicules d'un meriones ou de souris infectés avec *L. tropica*, 2 ont eu des lésions locales (tissu conjonctif et peau) qui se sont propagées aux testicules (Obs. 7), 1 a présenté des lésions testiculaires semblables à celles observées à la suite des inoculations intrapéritonéales, 1 est morte de septicémie. Dans aucun cas il n'y a eu infection générale.

Deux souris femelles inoculées, comme les précédentes, dans une des cuisses, ont présenté des lésions locales qui, chez l'une d'elles, se sont compliquées d'une infection générale (Obs. 8).

En résumé, sur 34 souris inoculées avec la *L. tropica*, 26 se sont infectées, sur lesquelles 2 seulement ont présenté une infection générale, en même temps qu'une infection locale; chez 2 souris, encore vivantes, le résultat de l'inoculation est incertain ; 3 souris sont mortes de septicémie; 2 ne se sont pas infectées.

La fréquence des gangrènes cutanées explique que la septicémie soit fréquente et qu'on observe souvent l'hypertrophie de la rate chez des souris qui n'ont pas de leishmaniose généralisée. La septicémie est particulièrement fréquente chez les souris qui sont inoculées avec le produit du broyage de tumeurs testiculaires présentant déjà de petites eschares cutanées.

Tandis que le virus du kala-azar indien ou méditerranéen s'atténue à la suite du passage par souris, le virus du bouton d'Orient provenant de la souris se montre très actif. On obtient facilement des infections au moyen d'inoculations de souris à souris (Obs. 9 et 10), et les infections ainsi produites ont une incubation plus courte et une évolution plus rapide que celles qui sont provoquées au moyen des cultures de *L. tropica*; on a vu plus haut qu'un macaque et des chiens, inoculés sur souris, ont présenté des boutons bien caractérisés et que la plupart des inoculations faites dans ces conditions ont réussi, ce qui n'est pas le cas lorsqu'on opère avec les cultures de *L. tropica.*

A la suite des inoculations intrapéritonéales chez les souris mâles, ou intratesticulaires, les lésions se localisent d'ordinaire dans les testicules et dans le tissu cellulo-adipeux voisin,

comme il a été dit plus haut; à la suite des inoculations sous-cutanées, il se produit des œdèmes locaux, de la tuméfaction des ganglions lymphatiques correspondant au siège de l'inoculation, des boutons ou de petits abcès; quelquefois l'infection se généralise, ce que j'ai noté 2 fois sur 26.

Les figures 1 et 2 donnent une idée de la quantité énorme de *Leishmania* que l'on trouve dans les lésions locales. La figure 1 représente des éléments anatomiques parasités, vus dans des frottis faits avec le produit d'une ponction d'un testicule, chez une souris infectée de *L. tropica*, ou avec le tissu cellulo-adipeux voisin.



Fig. 1. — 1-5, éléments parasités dans un frottis fait avec le produit d'une ponction d'un testicule chez une souris infectée par *L. tropica*. 1, grand élément parasité. — 2-4, grands mononucléaires parasités ; les éléments 3 et 4 sont bourrés de *Leishmania* ; par suite, les noyaux ont été refoulés à la périphérie. — 5, polynucléaire avec 3 *Leishmania*. — 6, grande cellule du tissu conjonctif parasitée, dessinée dans un frottis fait avec le tissu cellulo-adipeux détaché au-dessus d'un testicule malade de la même souris ; au milieu des éléments parasités on voit des *Leishmania* libres. — Gross., 1.000 D. environ.

La figure 2 représente des éléments anatomiques parasités dessinés dans un frottis fait avec la matière puriforme fournie par le bouton cutané de la souris qui fait l'objet de l'observation 5.

La quantité énorme des *Leishmania* explique la fréquence des gangrènes sèches. Les éléments anatomiques distendus par les parasites compriment les petits vaisseaux et l'oblitération de ces derniers entraîne la mortification des tissus.

Dans les deux cas où il y a eu infection générale, c'est dans la rate et dans le foie que les *Leishmania* ont été trouvées en plus grand nombre; dans un des cas, les parasites étaient rares

dans la moelle osseuse; dans l'autre cas, la moelle osseuse a été notée comme indemne.

Les *Leishmania* trouvées chez les souris infectées ont tous les caractères de la *L. tropica*. Les parasites sont libres ou inclus dans des éléments anatomiques (leucocytes mono ou polynucléaires, cellules endothéliales); ils ont d'ordinaire une forme ovalaire plus ou moins allongée et mesurent de 2 μ à 4 μ de long, sur 1 μ à 2 μ de large, parfois la forme est sphérique. Dans chaque élément, après coloration, on distingue un

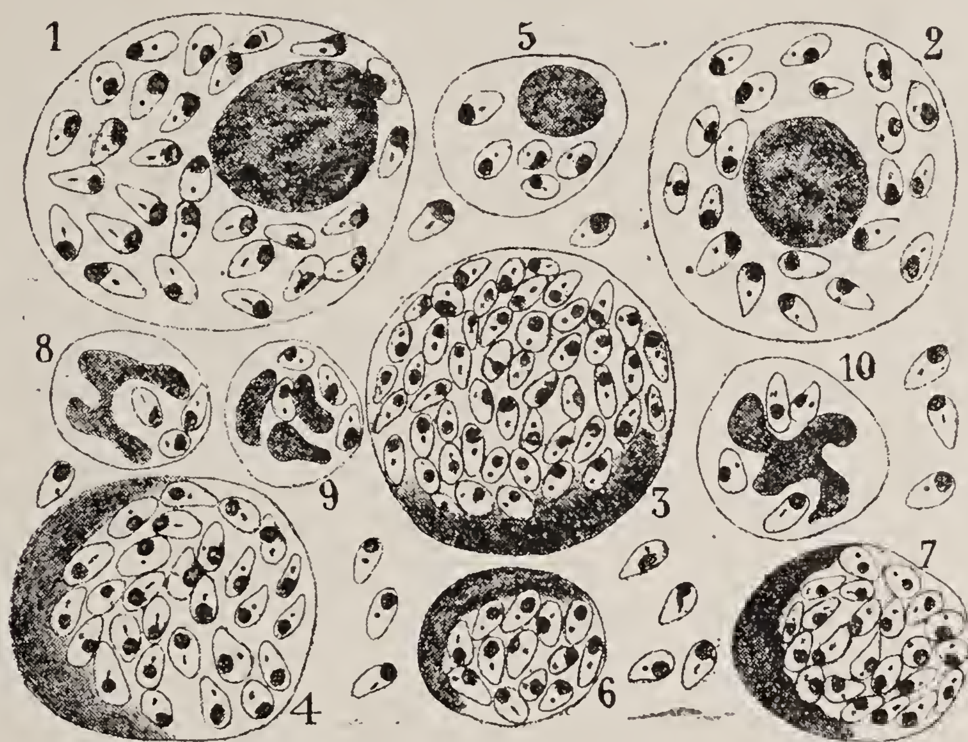


Fig. 2. — Eléments dessinés dans un frottis fait avec la matière puriforme fournie par la tumeur cutanée de la souris 5 infectée par *L. tropica*. — 1-4, grands éléments parasités; dans les éléments 3 et 4 qui sont bourrés de *Leishmania*, les noyaux sont refoulés à la périphérie. — 5, 6, 7, mononucléaires parasités. — 8, 9, 10, polynucléaires parasités. Au milieu des éléments parasités, on voit des *Leishmania* libres. Gross., 1.300 D. environ.

noyau et un centrosome souvent bacilliforme. Dans les *Leishmania* en voie de multiplication par bipartition, on voit 2 noyaux et 1 ou 2 centrosomes, suivant que la division est plus ou moins avancée. L'ensemencement dans le milieu de Novy simplifié donne facilement de belles cultures de flagellés.

La planche II représente des éléments anatomiques fortement parasités dessinés dans des frottis de lésions observées chez des souris infectées par *L. tropica* et des formes flagellées des cultures. Les éléments allongés reproduits dans la figure 9

ont été dessinés dans un frottis d'un bouton du macaque, inoculé sur souris, qui fait l'objet de l'observation 3.

Les *L. tropica* inoculées sous la peau se multiplient lentement dans le tissu conjonctif et dans les ganglions lymphatiques voisins du point d'inoculation; parfois l'infection, après inoculation dans une cuisse, gagne le tissu cellulo-adipeux abdominal et les testicules (Obs. 7); les lésions cutanées : boutons, abcès, eschares, ne sont pas rares.

Inoculées dans le péritoine, à l'état préflagellé ou à l'état flagellé, les *L. tropica* s'insinuent plus ou moins rapidement à travers le péritoine et se multiplient dans le tissu cellulo-adipeux sous-jacent; les testicules sont un de leurs lieux d'élection; ici encore les lésions cutanées et en particulier les eschares sont communes.

Il est rare que les *Leishmania* soient très nombreuses dans les ganglions lymphatiques et que ces derniers acquièrent, même au voisinage des points d'inoculation, un très gros volume.

Je résume les observations de 10 souris blanches qui ont été inoculées avec succès soit avec des cultures de *L. tropica*, soit avec le produit du broyage de viscères d'un meriones ou de souris infectés par cette *Leishmania*.

Une souris grise sauvage, inoculée dans les mêmes conditions que les souris blanches, s'est infectée comme ces dernières.

1° Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 18 et 22 mars, 1er avril, 11 mai, 31 juillet, 8 août et 4 septembre 1914 des injections de cultures de *L. tropica*; la quantité de culture injectée chaque fois varie de 0 c. c. 25 à 0 c.c. 50. Jusqu'au mois de septembre 1914, la souris ne présente rien d'anormal. Le 25 septembre, je constate qu'il existe, à la face ventrale, deux plaques brunâtres situées l'une en avant de l'anus, l'autre en avant du pénis; ces plaques qui ont l'étendue de pièces de 20 centimes environ sont indurées, parcheminées; il s'agit évidemment de foyers de gangrène sèche.

La souris est sacrifiée le 26 septembre 1914; elle pèse 18 grammes; la rate, fortement hypertrophiée, pèse 33 centigr.; au-dessous des plaques gangréneuses, on trouve un peu de pus caséeux dans lequel les *Leishmania*, sont très rares. Les testicules sous-jacents sont altérés tous les deux; les altérations du testicule droit sont plus marquées que celles du testicule gauche; les testicules sont gros, fortement indurés, difficilement reconnaissables au milieu du tissu conjonctif et graisseux qui les enserre. Après avoir incisé le testicule droit, je fais des frottis qui, colorés, montrent des *Leishmania* typiques en nombre énorme, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Les parasites sont également très nombreux dans les frottis

faits avec un lambeau du tissu conjonctif induré détaché au-dessus du testicule droit. Les *Leishmania* se montrent beaucoup plus rares dans les frottis du testicule gauche que dans ceux du droit.

Je m'attendais à trouver des *Leishmania* dans la rate qui était fortement hypertrophiée; cette attente a été déçue, je n'ai trouvé de parasites ni dans les frottis de rate, ni dans ceux de foie et de moelle osseuse.

2° Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 1er, 8 et 15 avril, 16 mai et 21 juillet 1914, des injections de cultures de *L. tropica*. La quantité de culture injectée chaque fois varie de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50. Jusqu'au mois de septembre 1914, la souris ne présente rien d'anormal. Le 15 septembre, on constate une gangrène sèche de la queue qui fait de rapides progrès. Le 25 septembre, la queue est tombée en entier et il existe à la face ventrale, en avant de l'anus, une plaque de gangrène sèche de la grandeur d'une pièce de 20 centimes environ. Les poils sont tombés à ce niveau, la peau est brunâtre, sèche, parcheminée, et l'on sent au-dessous une tumeur oblongue de consistance assez ferme.

La souris dont l'état général ne paraît pas mauvais est sacrifiée le 25 septembre; elle pèse 24 grammes ; la rate, fortement hypertrophiée, pèse 35 centigrammes. Les testicules qui sont gros, indurés, infiltrés d'une matière caséeuse, sont enlevés avec la plaque ventrale de gangrène sèche, à laquelle ils adhèrent. Après avoir incisé les testicules, je fais des frottis qui, colorés, montrent des *Leishmania* typiques en très grand nombre; les parasites sont tantôt libres, tantôt inclus dans des éléments anatomiques. Je ne trouve de *Leishmania* ni dans les frottis de la rate, qui cependant a subi une forte hypertrophie, ni dans les frottis de foie ou de moelle osseuse.

3° Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 28 mai, 11 et 25 juin, 10 juillet et 25 août 1914, des injections de cultures de *L. tropica*; la quantité de culture injectée chaque fois varie de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50. Jusqu'au mois de septembre, la souris ne présente rien d'anormal. Le 1er octobre, on constate l'existence, en avant de l'anus, de deux petites taches brunâtres de la grandeur de lentilles; la peau est, au niveau de ces taches, dure, desséchée. En avant de ces points de gangrène sèche se trouve une tumeur saillante, dure, transversale par rapport à l'axe du corps, occupant l'emplacement normal des testicules.

La souris est sacrifiée le 1er octobre ; elle pèse 24 grammes; la rate, fortement hypertrophiée, pèse 30 centigrammes. Après avoir incisé la paroi abdominale, on met à nu la tumeur qui est constituée par du tissu cellulo-adipeux très dense, induré par places et, après enlèvement de ce tissu, on distingue les deux testicules hypertrophiés, indurés, présentant une surface très irrégulière. Le tissu normal testiculaire a fait place, presque partout, à un tissu lardacé, blanchâtre. Dans les frottis du tissu de nouvelle formation qui recouvrait les testicules, et dans ceux des testicules, on trouve des *Leishmania* typiques en très grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques qui parfois en sont littéralement bourrés. On ne voit de *Leishmania* ni dans les frottis de la rate, pourtant hypertrophiée, ni dans les frottis de foie ou de moelle osseuse.

4° Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 28 mai, 6 et 25 juin, 10 juillet et 20 août 1914, des injections de cultures de *L. tropica* de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50 chaque. Jusqu'au mois de septembre 1914 on ne constate rien

d'anormal. — 28 septembre, les testicules sont gros, bosselés, indurés ; il n'y a pas de lésion cutanée. — 7 octobre, les testicules sont dans le même état que le 28 septembre. — 11 octobre, on ponctionne le testicule droit et l'on obtient une gouttelette d'une matière blanchâtre, puriforme, qui contient des *Leishmania* en quantité énorme. — 14 octobre, toute la région testiculaire s'empâte, on ne distingue plus les testicules l'un de l'autre. Une goutte d'un exsudat sanguinolent obtenue par ponction de la région testiculaire est ensemencée sur milieu de Novy simplifié ; à la date du 24 octobre, on obtient une culture très belle de flagellés typiques. La souris est sacrifiée le 15 octobre 1914, elle pèse 25 grammes ; la rate pèse 11 centigrammes. Les testicules sont très gros, indurés, surtout à leur partie inférieure ; le tissu cellulo-adipeux qui entoure les testicules est également épaissi et induré par places. Dans les frottis faits avec les testicules, et avec le tissu cellulo-adipeux voisin, on trouve des *Leishmania* en quantité énorme, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Il n'y a de *Leishmania* ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

5° Une souris adulte, femelle, reçoit, dans le péritoine, les 28 mai, 11 et 25 juin, 10 juillet et 20 août 1914, des injections de cultures de *L. tropica*. La quantité de culture pure injectée chaque fois varie de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50. Jusqu'au mois d'octobre 1914, la souris ne présente rien d'anormal. Le 11 octobre, on note à la paroi de l'abdomen, au niveau de la mamelle postérieure gauche, une induration de la grosseur d'un grain de chènevis, avec un point blanchâtre ; après avoir détaché l'épiderme à ce niveau, on peut enlever une parcelle de matière blanche, d'aspect caséeux, qui s'étale mal en frottis. Dans le frottis coloré, on voit des *Leishmania*, en nombre énorme, libres ou plus souvent incluses dans des éléments anatomiques (fig. 2). — 15 octobre, l'induration persiste ; petite croûte brunâtre à la surface. — 19 octobre, l'induration persiste ; au-dessous de la croûte, on trouve une goutte de liquide puriforme qui contient encore des *Leishmania*, beaucoup moins nombreuses que lors du premier examen. — 29 octobre, la petite tumeur paraît être en voie de résolution, il n'y a plus de suintement. — 2 novembre, il existe encore à la place de la tumeur une induration marquée.

La souris est trouvée morte le 5 novembre 1914, elle pèse 19 grammes ; la rate pèse 12 centigrammes. Le tissu cellulo-adipeux, situé dans l'abdomen, sur les côtés de la vessie, présente des indurations et des épaississements. Un frottis fait avec ce tissu montre des *Leishmania* en grand nombre, il en est de même d'un frottis fait avec la peau épaissie et indurée, siège de la petite tumeur abdominale. Il existe des *Leishmania* nombreuses dans le foie, non rares dans la rate, rares dans la moelle osseuse. La souris paraît avoir succombé à l'infection générale.

6° Une souris adulte est inoculée les 10, 24 et 28 octobre, dans le testicule droit, avec des cultures récentes de *L. tropica* ; on injecte chaque fois 2 gouttes de culture. — 11 novembre, le testicule droit est gros, induré. — 24 novembre, les deux testicules sont gros, indurés, empâtés. La peau présente une petite eschare sèche, brunâtre, au niveau du testicule droit. Une ponction pratiquée dans le testicule droit donne une goutte de sérosité trouble qui contient des *Leishmania* en très grand nombre. — 11 décembre, la tumeur testiculaire augmente de volume et l'eschare s'étend.

La souris est sacrifiée le 21 décembre 1914 ; elle pèse 19 grammes. Sous l'eschare, on trouve une couche de pus. Les testicules sont profondément

altérés, le droit surtout qui est à peine reconnaissable au milieu du tissu cellulo-adipeux épaissi qui l'entoure. *Leishmania* en très grand nombre dans le testicule gauche ; le testicule droit déjà atteint par la suppuration n'a pas été examiné. *Leishmania* non rares dans les ganglions inguinaux qui sont hypertrophiés. La rate, fortement augmentée de volume, pèse 20 centigrammes. Il n'y a de *Leishmania* ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

7° Une souris adulte, mâle, est inoculée le 30 septembre 1914, dans la cuisse gauche, avec le produit du broyage d'un testicule d'un meriones infecté de *L. tropica*. — 25 octobre, petite ulcération dans le pli de l'aine gauche, c'est-à-dire du côté de l'inoculation. Une goutte de sérosité fournie par l'ulcération contient des *Leishmania* en grand nombre. — 29 octobre, une petite croûte s'est formée à la surface de l'ulcération. — 3 et 10 novembre, l'ulcération de l'aine est toujours le siège d'un léger suintement. — 15 novembre 1914, la souris meurt brusquement pendant l'examen; elle pèse 20 grammes. La rate, très grosse, pèse 34 centigrammes. Les testicules ont un aspect à peu près normal. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés des deux côtés. L'examen des frottis colorés donne les résultats suivants : *Leishmania* nombreuses dans le tissu cellulo-adipeux œdémateux de l'aine gauche, non rares dans le testicule gauche, très rares dans le droit. Aucun parasite dans les frottis de rate, de foie, ni de moelle osseuse.

8° Une souris adulte, femelle, est inoculée le 30 septembre 1914, dans la cuisse droite, avec le produit du broyage d'un testicule d'un meriones infecté de *L. tropica*. Jusqu'au 21 décembre, on n'observe rien d'anormal. — 21 décembre, la souris est maigre, en mauvais état.

La souris est sacrifiée le 23 décembre 1914; elle pèse 13 grammes. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés, le ganglion inguinal droit est plus gros que le gauche. La rate pèse 8 grammes. Dans un frottis fait avec une goutte de sérosité recueillie dans l'aine droite, on trouve des *Leishmania* nombreuses, ainsi que dans les frottis faits avec le ganglion inguinal droit; les parasites sont moins nombreux dans le ganglion inguinal gauche. *Leishmania* non rares dans la rate, très rares dans le foie; la moelle osseuse est indemne.

9° Une souris adulte, femelle, est inoculée le 1er octobre 1914, dans la cuisse droite, avec le produit du broyage d'un testicule d'une souris infectée de *L. tropica*. — 8 octobre, un abcès qui s'est formé à la partie supérieure de la cuisse droite est ouvert. Le pus contient des bactéries en grand nombre, on n'y trouve pas de *Leishmania*. — 26 octobre, l'abcès donne encore un suintement dans lequel je constate l'existence de *Leishmania* non rares, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. — 2 novembre, la fistule consécutive à l'abcès donne encore un peu de pus séreux dans lequel on constate, malgré l'existence de bactéries nombreuses, des *Leishmania* rares, mais typiques. — 15 novembre, l'abcès s'est reformé à la partie supérieure de la cuisse droite; le ventre est gros.

La souris est sacrifiée le 15 novembre 1915; elle pèse 22 grammes; la rate, très grosse, pèse 55 centigrammes; l'abcès qui a le volume d'une cerise fait saillie dans l'abdomen, il contient un pus très épais. Le ganglion inguinal droit est hypertrophié. Les frottis du ganglion inguinal droit contiennent des *Leishmania* non rares. On ne trouve de *Leishmania* ni dans le pus, ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

10° Une souris adulte, mâle, est inoculée le 7 novembre 1914, dans le péritoine, avec le produit du broyage des testicules d'une souris infectée de *L. tropica*. — 2 janvier 1915, les testicules sont gros, empâtés; on sent des nodosités au-dessus. — 10 janvier, le produit d'une ponction du testicule droit contient des *Leishmania* en grand nombre. — 14 janvier, tumeur testiculaire typique, pas de points de gangrène.

La souris est sacrifiée le 16 janvier 1915; elle pèse 27 grammes. Les testicules sont gros, indurés, et le tissu cellulo-adipeux voisin est épaissi. La rate, augmentée notablement de volume, pèse 23 centigrammes. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés. *Leishmania* en grand nombre dans les testicules et dans le tissu cellulo-adipeux voisin. On ne trouve de *Leishmania* ni dans le foie, ni dans la rate, ni dans la moelle osseuse, ni dans les ganglions inguinaux.

Des résultats que j'ai obtenus chez 26 souris, je crois pouvoir conclure que la *L. tropica*, inoculée sous la peau ou dans le péritoine, produit, en général, chez la souris, des accidents et des lésions anatomiques qui diffèrent de ceux qu'on observe dans les infections dues à la *L. infantum* ou à la *L. Donovani*.

La divergence des résultats obtenus par les différents expérimentateurs qui ont réussi à infecter les souris à l'aide de *L. tropica* peut s'expliquer par ce fait que les virus inoculés étaient plus ou moins actifs et par cet autre fait que les procédés d'inoculation employés n'ont pas été les mêmes.

Rat. — Ayant constaté que la *L. tropica* se développait avec une grande facilité dans le testicule des souris, j'ai inoculé un rat dans un testicule avec le virus fourni par une souris; l'observation résumée ci-dessous montre qu'il y a eu, chez le rat, une infection très nette localisée au testicule inoculé et au tissu cellulo-adipeux voisin.

Un jeune rat blanc et noir est inoculé le 15 octobre 1914, dans le testicule droit, avec le produit du broyage d'un testicule de la souris qui fait l'objet de l'observation 4. A cet effet, le produit du broyage est délayé dans un peu d'eau physiologique et on injecte, dans le testicule, un dixième de cent. cube du mélange. Le rat est trouvé mort le 30 octobre, il pèse 65 grammes. La rate est grosse, elle pèse 95 centigrammes, mais l'autopsie démontre que le rat était infecté de *Tr. Lewisi* (infection naturelle), ce qui explique l'hypertrophie de la rate. Le testicule droit a seulement la moitié du volume du gauche et sa consistance est diminuée. Dans les frottis faits avec le testicule droit, et avec le tissu cellulo-adipeux qui le surmonte, on trouve des *Leishmania* typiques en très grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Les examens du testicule gauche, du tissu cellulo-adipeux voisin, de la rate, du foie et de la moelle osseuse sont complètement négatifs au point de vue de l'existence des *Leishmania*.

Il est à noter que, dans ce cas, les altérations testiculaires étaient très différentes de celles observées chez les souris.

Un autre rat, inoculé dans un des testicules avec des cultures de *L. tropica*, s'est infecté comme le premier.

Deux rats inoculés dans les testicules avec des cultures de *L. Donovani* ne se sont pas infectés.

Meriones Shawi. — 3 *M. Shawi*, 1 mâle et 2 femelles, provenant de Tunisie, ont été inoculés, dans le péritoine, avec des cultures de *L. tropica*, vieilles de un mois environ; le mâle seul s'est infecté et a présenté des lésions identiques à celles des souris. L'une des femelles, qui avait reçu 3 injections dans le péritoine, sacrifiée en mauvais état, un mois et demi après la première inoculation, n'a pas montré trace d'infection par la *L. tropica*; l'autre femelle, qui a reçu 7 injections intrapéritonéales de cultures, vit encore et ne présente aucun signe d'infection.

Je résume l'observation du meriones mâle.

Un *Meriones Shawi*, mâle, reçoit, du 8 avril au 25 juillet 1914, dans le péritoine, 5 injections de cultures de *L. tropica*; on injecte chaque fois de 1/4 à 1/2 cent. cube de culture de 1 mois environ. — 28 septembre, les testicules sont gros, indurés; on constate l'existence d'une petite plaque de gangrène sèche à la peau qui recouvre la tumeur testiculaire. Une ponction faite le 29 septembre, dans le testicule droit, donne une goutte d'un liquide sanguinolent qui contient des *Leishmania* en très grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Les parasites mesurent 3 à 4 μ de long, sur 1 μ 1/2 à 2 μ de large. Les débuts de la maladie ont évidemment échappé à notre observation qui n'était pas encore éveillée sur la fréquence des lésions testiculaires dans les infections produites par *L. tropica*.

Le meriones est sacrifié le 30 septembre 1914; il pèse 100 grammes; la rate pèse 20 centigrammes. Les testicules sont gros, le droit, plus malade que le gauche, est induré à sa partie inférieure où l'on trouve un petit abcès à contenu caséeux, correspondant à l'eschare cutanée à laquelle adhère le testicule. *Leishmania* en grand nombre dans le testicule droit et dans le tissu cellulo-adipeux voisin, en moins grand nombre dans le testicule gauche. On ne trouve de parasites ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

Loir (*Myoxus glis*). — Sur 2 loirs inoculés, 1 au moins s'est infecté.

Un loir mâle est inoculé les 13, 17, 25 novembre, 2, 12, 22 et 27 décembre 1914, avec des cultures de *L. tropica*. Les 6 premières inoculations sont faites dans le péritoine, avec des cultures âgées de 1 mois environ; la

septième inoculation est faite dans la cuisse droite avec une culture jeune. On injecte chaque fois un demi cent. cube de culture très belle. — 6 janvier 1915, les testicules sont légèrement indurés. — 10 janvier, une ponction pratiquée au niveau du testicule droit donne une goutte d'un liquide sanguinolent qui contient des *Leishmania* non rares. — 14 janvier, une nouvelle ponction du testicule droit donne une goutte de liquide sanguinolent avec *Leishmania* en assez grand nombre. — 18 janvier, testicules augmentés notablement de volume et indurés.

Un autre loir, inoculé dans les mêmes conditions que le premier, présente, à la date du 18 janvier, une légère induration des testicules; l'infection est probable, non certaine encore.

Cobaye. — Nicolle et Manceaux ont inoculé à plusieurs reprises 2 cobayes, dans la cavité péritonéale ou dans le foie, avec des cultures de *L. tropica*; les résultats ont été négatifs.

Deux cobayes inoculés par moi dans le testicule droit avec le produit du broyage des testicules d'une souris infectée de *L. tropica* ont eu des infections limitées au testicule droit avec atrophie de ce testicule. Je résume l'observation d'un de ces cobayes.

Un cobaye est inoculé les 5 et 7 novembre 1914, dans le testicule droit, avec le produit du broyage des testicules de souris infectées de *L. tropica*. — 30 novembre, je pratique une ponction dans le testicule droit qui ne paraît pas altéré. Le frottis fait avec la goutte de sérosité trouble ainsi obtenue contient des *Leishmania* en assez grand nombre. A partir du 5 décembre, le testicule droit s'atrophie; il est plus petit que le gauche et sa consistance est diminuée. — Le cobaye est sacrifié le 25 décembre 1914; il pèse 520 gr. Le testicule gauche pèse 1 gr. 50; le testicule droit ne pèse que 65 centigrammes, il est donc fortement atrophié, sa consistance est diminuée; la coloration est normale, il n'y a pas d'injection des vaisseaux. Un frottis du testicule droit montre des *Leishmania* rares; on ne trouve de *Leishmania* ni dans le testicule gauche, ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle des os.

C. — Animaux inoculés sans succès avec la Leishmania tropica.

Mammifères. — C. Nicolle et L. Manceaux ont inoculé sans succès, avec le virus provenant directement de boutons d'Orient ou avec des cultures de *L. tropica* : 2 ânes, 1 cheval, 2 chèvres, 4 moutons, 1 lapin (1).

(1) Nicolle et Manceaux, *Ann. Institut Pasteur*, septembre 1910, t. XXIV, p. 703.

Les ânes et le cheval ont été inoculés dans la peau et le tissu conjonctif sous-cutané du nez et à la partie interne de l'oreille par scarification.

Les chèvres et 2 moutons ont été inoculés dans et sous la peau du nez directement avec le virus du bouton, les 2 autres moutons ont été inoculés avec de fortes doses de cultures de *L. tropica* dans le péritoine et dans le foie.

Wenyon a inoculé sans succès des cultures de *L. tropica* à des lapins (1).

Deux lapins inoculés par moi, dans un des testicules, avec le produit du broyage des testicules d'une souris fortement parasités par *L. tropica* ne se sont pas infectés.

Un lérot (*Myoxus nitela*) et 3 gerbilles (*Gerbillus hirtipes*) inoculés à plusieurs reprises, dans le péritoine ou sous la peau, avec des cultures de *L. tropica* ne se sont pas infectés.

Oiseaux. — Nicolle et Manceaux ont inoculé sans succès, dans la cavité péritonéale, avec des cultures de la *L. tropica*, 3 moineaux et 4 pigeons.

Animaux a sang-froid. — J'ai inoculé sans succès, dans le péritoine ou sous la peau, 3 *Lacerta viridis*, avec des cultures de *L. tropica* ou avec le résultat du broyage de produits fournis par des souris infectées.

D. — Parasites de Lacertiens et d'Insectes suceurs de sang pouvant être soupçonnés d'avoir des relations avec la Leishmania tropica.

Quelques faits permettent de supposer que le gecko d'Algérie, *Tarentola mauritanica*, peut servir de réservoir au virus du bouton d'Orient.

Ed. et Et. Sergent, G. Lemaire et G. Sénevet ont constaté que l'ensemencement des organes des tarentes de Biskra (Algérie) donnait, dans 15,7 p. 100 des cas, des cultures pures d'un *Herpetomonas* semblable aux *Leishmania* des cultures

(1) C.-M. Wenyon, *Jl. London School of trop. med.*, avril 1913.

du bouton d'Orient (1). Les cultures du sang de ces tarentes donnent, dans 14,4 p. 100 des cas, un trypanosome à formes parfois crithidiennes, toujours bien distinct des *Herpetomonas* ; il s'agit sans doute de la forme de culture du *Tr. platydactyli* que l'on trouve, à l'examen direct du sang, chez 10 p. 100 des tarentes de Biskra.

Les auteurs supposent que la tarente sert de réservoir au virus du bouton d'Orient et que le *Phlebotomus minutus africanus*, qui est commun à Biskra et qui pique l'homme et la tarente, sert au transport et à l'inoculation de la *L. tropica*.

Howett a signalé que le *Phlebotomus minutus* de l'Inde se nourrit constamment aux dépens des lacertiens et en particulier des geckos (2) ; Roubaud a confirmé le fait pour le *Phlebotomus minutus* var. *africanus* (3).

Au cours de ses recherches sur le bouton d'Orient, Wenyon a trouvé des *Herpetomonas* chez 6 p. 100 des *Phlebotomus* qu'il a examinés à Alep (4).

F.-P. Mackie a trouvé, aux Indes, un *Herpetomonas* assez commun chez *Phlebotomus minutus* (5).

Wenyon et Mackie pensent que ces *Herpetomonas* sont des parasites naturels des simulies, sans rapport avec le bouton d'Orient.

Il est à noter que, dès 1909, J. Georgevitch avait décrit un trypanosomide d'une simulie de Serbie sous le nom de *Crithidia simuliæ* (6).

Laveran et Franchini ont montré qu'on pouvait infecter des Mammifères avec des Flagellés des puces et des moustiques et qu'on trouvait, en petit nombre il est vrai, des éléments tout à fait comparables aux *Leishmania* chez les animaux ainsi infectés (7). La fréquence de ces parasites chez les simulies, et le fait que l'existence de ces mouches a été signalée dans beaucoup de localités où le bouton d'Orient est endémique, suggère

(1) Ed. et Et. Sergent, G. Lemaire et G. Sénevet, *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914.

(2) Howett, *Indian Jl. of med. Research*, juillet 1913.

(3) E. Roubaud, *Soc. de path. exotique*, 14 janvier 1914.

(4) C.-M. Wenyon, *Jl. of the London Sch. of trop. med.*, 1912, t. I, p. 98.

(5) F.-P. Mackie, *Indian Jl. of med. Research*, juillet 1914, t. II, p. 377.

(6) J. Georgevitch, *Soc. de Biologie*, 13 novembre 1909.

(7) A. Laveran et G. Franchini, *Acad. des Sciences*, 1er septembre et 4 novembre 1913, 16 février et 16 mars 1914 et *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914.

qu'il pourrait exister une relation entre les Flagellés des simulies et *L. tropica*.

Chatton et Blanc ont trouvé, dans le sang de 8 geckos de Metlaoui (Tunisie), de petits éléments groupés dans une vacuole occupant un des pôles du globule parasité dont le noyau est refoulé à l'autre pôle. Les parasites, en forme de fuseau ou de croissant, ont l'aspect de toxoplasmes, mais en dehors du noyau médian on trouve, comme chez les *Leishmania*, un blépharoplaste ou centrosome. Le nombre des éléments parasitaires, groupés parfois en barillet, dans un hématoblaste est de 5 à 10. Le nombre des éléments parasités est peu élevé (1).

Ces corps leishmaniformes sont-ils le point de départ des flagellés constatés par Ed. et Et. Sergent, Lemaire et Sénevet dans les milieux de culture ensemencés avec les organes des tarentes de Biskra? C'est là une question qu'il sera très intéressant d'élucider.

Au point de vue du rôle que les Reptiles peuvent jouer dans l'étiologie des leishmanioses, le fait suivant, signalé par Lindsay (2), est fort intéressant. Au Paraguay, c'est une opinion très répandue parmi les travailleurs des forêts que la buba (leishmaniose de la peau et des muqueuses) est produite par la piqûre d'ixodes ou de simulies (désignées sous le nom de *mbariguies*) qui se sont nourris sur des serpents à sonnettes; quand on trouve dans la forêt un de ces serpents enroulé, on observe presque toujours une nuée de simulies au-dessus et, si on tue le serpent, on constate que des *Amblyomma striatum* adhèrent en beaucoup de points à sa peau. Pour éviter les piqûres des simulies, les péones s'enduisent les bras et les jambes avec de la graisse de volailles.

Conclusions générales.

La leishmaniose naturelle du chien qui a été observée dans toutes les régions où le kala-azar méditerranéen est endémique présente la plus grande ressemblance, au point de vue des

(1) Ed. Chatton et G. Blanc, *Soc. de Biologie*, 25 juillet 1914.
(2) J.-W. Lindsay, *Transact. of the Soc. of trop. med. a. hyg.*, juillet 1914, t. VII, p. 259.

symptômes, de l'évolution et de l'anatomie pathologique, avec la leishmaniose que l'on provoque facilement chez le chien en lui inoculant la *L. infantum*. La *Leishmania* de l'infection naturelle du chien ne peut pas être distinguée morphologiquement de la *L. infantum*.

Toutes les probabilités paraissent donc être en faveur de l'identité de la *L. infantum* et de la *Leishmania* de l'infection naturelle du chien ; il n'est pas douteux cependant qu'il existe encore des obscurités : le rapport de fréquence de la leishmaniose du chien et de la leishmaniose infantile est inconstant ; il est rare d'observer des chiens infectés de leishmaniose dans les maisons où se trouvent des malades atteints de kala-azar ; enfin le kala-azar indien étant inoculable au chien, comme le kala-azar méditerranéen, plus difficilement à vrai dire, on s'explique mal pourquoi toutes les recherches faites dans l'Inde pour découvrir des cas d'infection naturelle du chien sont demeurées infructueuses. Ces obscurités se dissiperont vraisemblablement quand nous saurons comment se propagent les *Leishmania*.

Les infections expérimentales du chien, des macaques et de la souris blanche réussissent avec la *L. Donovani* comme avec la *L. infantum* ; les mêmes procédés d'inoculation sont applicables aux deux virus, et les infections provoquées présentent une grande ressemblance. Pour contester l'identité du kala-azar indien et du kala-azar méditerranéen, on ne peut donc plus objecter que les animaux sensibles à la *L. infantum* sont réfractaires à la *L. Donovani*. Il y a lieu de noter toutefois que le chien est moins sensible au virus du kala-azar indien qu'à celui du kala-azar méditerranéen, et qu'on a réussi à provoquer chez des macaques, avec la *L. Donovani*, des lésions cutanées semblables à celles du bouton d'Orient, alors que les essais d'inoculation de la *L. infantum* dans la peau ou dans le tissu conjonctif sous-cutané ont échoué jusqu'ici.

Un *M. cynomolgus* ayant l'immunité pour le kala-azar méditerranéen a été inoculé sans succès avec le virus du kala-azar indien, alors qu'un *M. cynomolgus* témoin contractait une infection rapidement mortelle ; ce fait fournit un argument de grande importance en faveur de l'identité des deux virus ;

l'expérience qui est unique est malheureusement difficile à répéter.

Il existe dans la science un certain nombre de cas de leishmaniose cutanée naturelle du chien qui paraissent relever de la *L. tropica*. La question se pose, comme pour les leishmanioses cutanées de l'homme, de savoir si la *Leishmania* américaine constitue une espèce à part ou si elle n'est qu'une simple variété de la *L. tropica*.

La *L. tropica* qui est inoculable au chien, aux macaques, à la souris blanche et à quelques autres petits Rongeurs, produit d'ordinaire chez ces animaux des affections localisées qui, chez le chien et chez les macaques, ont la plus grande ressemblance avec le bouton d'Orient de l'homme. Chez la souris, il n'est pas rare qu'on provoque par l'inoculation intrapéritonéale ou intraveineuse de la *L. tropica* des infections générales, sans lésions locales, identiques à celles qui peuvent être provoquées par la *L. infantum* ou la *L. Donovani* ; comme d'autre part on a obtenu, dans quelques cas, chez des macaques, au moyen du virus du kala-azar indien, des lésions locales, assimilables à celles du bouton d'Orient, sans infection générale, on doit se demander si la *L. tropica* n'est pas une simple variété de la *L. Donovani* ou de la *L. infantum* qui se serait adaptée à des conditions de vie et de transmission différentes de celles de ces dernières *Leishmania*.

Il y aura lieu de poursuivre les expériences ayant pour but de rechercher si des animaux qui ont acquis une immunité solide pour la *L. tropica* peuvent être infectés par la *L. Donovani* ou la *L. infantum* ou inversement.

Il y aura lieu également de poursuivre l'étude des parasites des Lacertiens et celle des Flagellés et des autres parasites des Insectes suceurs de sang (puces, moustiques, simulies); on réussira peut-être ainsi à élucider la question encore si obscure de l'étiologie des leishmanioses.

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I.

Macacus sinicus présentant des boutons d'Orient non ulcérés à la tempe droite et un bouton ulcéré à la face externe de la cuisse droite.

Planche II.

Les figures 1 à 19 représentent différents aspects de *L. tropica* dans les tissus. — 1 à 6, éléments anatomiques parasités dans un frottis fait avec le produit d'une ponction d'un testicule chez une souris infectée par *L. tropica*. — 1, 2, grands éléments parasités. — 3 à 5, grands mononucléaires parasités. — 6, polynucléaire avec 3 *Leishmania*. — 7, grande cellule du tissu conjonctif parasitée, dessinée dans un frottis fait avec le tissu cellulo-adipeux pris au-dessus du testicule de la même souris. — 8, amas de *Leishmania* simulant une forme de schizogonie. — 9, 3 *Leishmania* de forme allongée dessinées dans un frottis de bouton d'un macaque inoculé avec *L. tropica* sur souris. — 10 à 19, éléments anatomiques parasités dessinés dans un frottis fait avec le bouton de la souris qui fait l'objet de l'observation 5. — 10 à 13, grands éléments parasités; dans les éléments 12 et 13 qui sont bourrés de *Leishmania*, les noyaux sont refoulés à la périphérie. — 14 à 16, mononucléaires parasités. — 17 à 19, polynucléaires parasités. — Au milieu des éléments anatomiques parasités, on voit des *Leishmania* libres dont 2 sont en voie de division. Gross., 1.200 D. environ.

Les figures 20 à 30 représentent différents aspects de *L. tropica* dans les cultures. — 20, flagellés groupés en rosace. — 21, un flagellé isolé d'une rosace. — 22 à 25, formes flagellées longues et effilées, — 26, forme flagellée sphérique. — 27, petite forme flagellée. — 28 à 30, formes flagellées en voie de division. Gross., 1.500 D. environ.

DEUX ÉPIDÉMIES DE FIÈVRE TYPHOIDE VACCINATIONS ANTITYPHIQUES AU VIRUS SENSIBILISÉ VIVANT DE BESREDKA

par M. CIUCA, D. COMBIESCU, et J. BALLEANU,
Médecins de l'armée roumaine.

(Travail du Laboratoire de médecine expérimentale du Professeur CANTACUZÈNE et du laboratoire volant du IIe corps d'armée. Bucarest.)

L'épidémie de fièvre typhoïde, qui a sévi dans deux régiments d'infanterie en des garnisons différentes, nous a procuré l'occasion d'ajouter aux mesures prophylactiques habituelles la vaccination des soldats avec *le virus sensibilisé vivant*.

En dehors du grand nombre de contre-indications des vaccins antityphiques, préparés par l'action brutale des agents physiques ou chimiques sur le microbe, des données recueillies dans les nombreuses statistiques publiées, des considérations biologiques ainsi que des faits expérimentaux nous ont déterminés à choisir le vaccin sensibilisé vivant, mis gracieusement à notre disposition par M. Besredka.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer ici nos plus vifs remerciements.

Des essais antérieurs d'immunisation passive, appliqués par l'un de nous au traitement des cas très graves de typhoïde, ont réalisé, à notre avis, une atténuation sensible de la gravité des symptômes. Sur 15 cas choisis parmi les plus graves et traités avec de grandes quantités de sérum antityphique Besredka (300 à 400 cent. cubes dans les muscles, jusqu'à 40 cent. cubes dans la veine), l'évolution de la maladie, la marche des phénomènes immunisants, mises en évidence par des procédés bactériologiques et sérologiques, nous donnent un tableau comparable à celui présenté par un sujet préalablement vacciné et devenu typhique ultérieurement.

La mise au point faite par M. Besredka dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur* (p. 15-16, 1913), ainsi que les Mémoires sur les vaccinations antityphiques publiés dans les *Annales de*

l'Institut Pasteur (août 1913, p. 880-881 et 1914), résument toute la bibliographie de cette question.

Avant d'aborder la question de la vaccination, nous allons donner un court historique des deux épidémies, qui ont sévi dans les 3e et 30e régiments d'infanterie de l'armée roumaine.

Considérations épidémiologiques.

Vers le commencement du mois de janvier 1913, la fièvre typhoïde se déclara au 30e régiment d'infanterie (Càmpu-Lung); la marche de l'épidémie ainsi que les recherches du laboratoire volant, installé dans la caserne même, établirent nettement qu'il s'agissait d'une épidémie de contact, entretenue par des porteurs de germes. La caserne, située dans un des plus jolis endroits montagneux, au milieu d'un parc, est alimentée d'eau de source.

L'éclosion de l'épidémie coïncida avec le déversement du contenu des latrines dans la cour même de la caserne, alors complètement dépourvue d'égouts. Un lac situé dans le jardin de la caserne, et qui servait de lavoir clandestin, avait également contribué à entretenir l'épidémie.

Sur un effectif approximatif de *1.300 hommes*, on constate en deux mois *80 cas de typhoïde et 11 porteurs de germes*, dont quelques-uns étaient affectés au service des cuisines et des réfectoires; la mortalité était de 5 p. 100 de la morbidité totale.

Une enquête épidémiologique, faite par l'un de nous, vers la fin du mois de février 1913, au 3e régiment d'infanterie (Slatina), établit les causes d'une *épidémie de typhoïde avec 61 cas, en moins de 25 jours*. Bien que l'épidémie fût plutôt bénigne, la mortalité atteignit 8 p. 100 de la morbidité totale.

Le caractère spontané de l'épidémie, ainsi que la répartition uniforme des cas parmi toutes les petites unités, nous amenèrent à incriminer l'eau du puits qui alimentait la caserne. L'analyse bactériologique de l'eau du puits, de la conduite principale et des branches de distribution dans l'intérieur de la caserne, a donné les résulats suivants : plus de 100.000 colonies microbiennes par 1/10e de cent. cube; des colonies liquéfiantes, très nombreuses. Sur des milieux à glucose, on isole du

premier coup, à 40 degrés, le B. coli, que l'on identifie entre autres par la réaction de l'indol et les autres réactions basées sur la fermentation des sucres. Les milieux à bile, à extraits de bile et à sels biliaires, que nous considérons comme les meilleurs pour l'isolement du bacille typhique, ont donné constamment des résultats négatifs. Il n'était pas étonnant que l'eau du puits soit si chargée de matières organiques, étant donnés l'emplacement du puits et la manière dont se faisait l'alimentation de la caserne.

Situé à 50 mètres d'une mare stagnante, sur les bords de laquelle on déposait le fumier et les ordures ménagères de la ville, ce puits était creusé dans un terrain très perméable.

Deux conditions nouvelles achevèrent de saturer l'eau en matières organiques : la mare, située à proximité du puits, recevait une partie des restes de l'abattoir de la ville, et la conduite principale d'eau côtoyait l'égout de la caserne, avec lequel elle était en contact sur une longueur d'à peu près 50 mètres. En un point de cette zone de contact, par suite d'une rupture de l'égout, le terrain était infiltré par les eaux sales.

L'examen des matières fécales de tous les soldats de ce régiment a confirmé les résultats des recherches sur le terrain : *nous n'avons pas trouvé un seul porteur de germes parmi les hommes bien portants.* Les cas de typhoïde cessèrent brusquement, dès qu'on eut condamné le puits infecté et utilisé l'eau de source qui alimentait la ville. Nouvelle raison pour attribuer cette épidémie à l'eau infectée plutôt qu'au contact.

Vaccination.

Convaincus de la grande utilité des vaccinations antityphiques dans l'armée, surtout dans notre pays où il y a encore des foyers endémiques de fièvre typhoïde, nous avons proposé l'application du virus vivant sensibilisé dans ces deux régiments. Le vaccin nous était envoyé concentré par 100 doses en 10 cent. cubes d'eau physiologique. Avec les dilutions faites à 1 cent. cube, nous avons pratiqué des injections à huit jours d'intervalle, la deuxième contenant la quantité double de vaccin. Les injections ont été faites dans la masse musculaire, de préférence dans la région supéro-externe de la fesse.

Comme antisepsie locale, de la teinture d'iode à 1 p. 100 avant et *après l'injection.*

Pour mieux nous rendre compte de la marche des réactions, nous avons pris nous-mêmes les températures, en continuant l'observation des hommes jusqu'à l'apyrexie complète.

Nous avons vacciné de cette manière, pendant l'épidémie même (du mois d'avril 1913), une moitié des hommes de chaque compagnie, l'autre moitié nous servait de témoin. Il faut ajouter *que tous* les soldats d'une même compagnie vivent dans des conditions semblables : ils habitent une grande chambre commune, rarement deux ; se servent du même lavabo, ont le même réfectoire, le même terrain d'exercices, etc.

Le nombre de soldats vaccinés dans ce régiment a été de *598.* On a vacciné également 31 convalescents porteurs ou non porteurs de germes *et les 13 infirmiers et brancardiers qui les soignaient.*

Au 30e régiment nous avons vacciné (vers la fin du mois de mai), *634 hommes*, toujours par moitié de chaque compagnie. *22 convalescents porteurs ou non porteurs ont été également injectés.* L'épidémie était, en ce moment, éteinte ; le dernier cas paru remontait à plus de six semaines.

Réactions constatées après la vaccination.

Voilà le résumé de nos observations faites sur un nombre total de 1.298 vaccinés avec un nombre égal de témoins non injectés.

Une *réaction locale douloureuse* a été la règle ; chez un grand nombre de soldats, elle a été remplacée par une faible sensation d'engourdissement du membre inférieur correspondant.

L'inflammation à l'endroit de l'injection se manifestait par une zone d'œdème, qui ne dépassait pas 3 centimètres de diamètre. Quarante-huit heures après, il n'en restait plus traces. Quelques soldats, le jour même de l'injection, vaquèrent à leurs occupations. Dans un seul cas, la réaction a duré 8 jours. Cela ne nous a pas empêché de faire la deuxième injection, qui a été d'ailleurs parfaitement supportée.

La réaction générale (d'après les chiffres du tableau ci-contre)

3e RÉGIMENT D'INFANTERIE

Noms des unités	Ire injection. Nombre total de vaccinés	Ire injection. Température ne dépassant pas 37°5	Ire injection. Température 37°5 38°5	Ire injection. Température dépassant 38°5	Ire injection. Réaction tardive	IIe injection. Température ne dépassant pas 37°5	IIe injection. Température 37°5-38°5	IIe injection. Température dépassant 38°5	IIe injection. Réaction tardive
1re compagnie .	51	33	11	5	2	44	6	—	1
2e —	52	36	13	—	3	35	12	2	3
3e —	47	32	8	2	5	36	7	3	1
4e —	53	38	9	1	5	31	15	5	2
5e —	49	40	2	1	6	31	15	2	1
6e —	47	33	6	2	6	28	10	5	4
7e —	49	42	4	3	—	33	13	2	1
8e —	47	40	4	2	1	32	8	1	6
9e —	49	36	6	4	3	31	8	4	6
10e —	52	41	5	2	4	28	17	4	3
11e —	51	37	3	1	10	35	9	1	6
12e —	51	33	4	—	14	30	10	1	10
Convalescents .	31	5	16	5	5	23	7	1	—
Infirmiers. . . .	13	8	4	1	—	12	1	—	—
Totaux	642	454	95	29	64	429	138	31	44

30e RÉGIMENT D'INFANTERIE

Noms des unités	Ire injection. Nombre total de vaccinés	Ire injection. Température ne dépassant pas 37°5	Ire injection. Température 37°5-38°5	Ire injection. Température dépassant 38°5	Ire injection. Réaction tardive	IIe injection. Température ne dépassant pas 37°5	IIe injection. Température 37°5-38°5	IIe injection. Température dépassant 38°5	IIe injection. Réaction tardive
1re compagnie.	52	44	5	2	1	43	3	4	2
2e —	48	38	5	5	»	41	3	3	1
3e —	51	36	9	5	1	32	10	9	—
4e —	58	41	15	2	—	43	9	6	—
5e —	50	36	9	5	—	37	9	4	—
6e —	48	37	8	2	1	31	13	4	—
7e —	47	35	11	1	—	28	13	6	—
8e —	49	30	14	5	—	30	10	8	1
9e —	50	40	8	2	—	36	10	3	1
10e —	47	37	8	2	—	35	10	1	1
11e —	44	34	6	4	—	29	11	4	—
12e —	47	39	5	3	—	35	9	3	—
Sous-officiers .	24	21	3	—	—	22	2	—	—
Comp. mitrail .	19	17	2	—	—	17	2	—	—
Totaux. . . .	634	495	108	38	3	459	114	55	6

s'est manifestée par un mouvement fébrile qui ne dépassait 38°5 que dans 5 p. 100 des cas; dans 15 p. 100 la fièvre oscillait entre 37°5 et 38°5; la température restait inférieure à 37°5 dans 74 p. 100 des cas.

Le *maximum de la fièvre* se manifestait *dix à douze heures après l'injection.* Dans 6 p. 100 des cas seulement l'élévation de la température a duré plus de trois à quatre jours. Chez quelques sujets nous avons observé des réactions fébriles tardives (de trente-six heures jusqu'à quatre jours après l'injection) qui duraient plus longtemps que les réactions immédiates.

Après la deuxième injection la réaction fébrile est plus fréquente qu'après la première, mais elle est moins forte. D'ailleurs il n'y a aucun rapport entre les oscillations thermiques qui se produisent chez le même individu après chacune des deux injections, comme en témoignent les deux tableaux nominaux suivants (p. 111 et 112).

La plupart des soldats qui ont fortement réagi après la première injection gardent une température inférieure à 37°5 après la deuxième.

Il est probable que les écarts de température tiennent aussi, en dehors de la sensibilité spéciale de chaque individu, aux petites variations de doses de vaccin injectées, quand on se sert de seringues de gros calibre.

La réaction générale était particulièrement accentuée si on blessait accidentellement un petit vaisseau. Dans tous ces cas nous avons constaté à l'endroit de l'injection un petit nodule, qui ne mettait pas plus de quatre jours pour se résoudre.

Nous avons examiné de près un grand nombre de soldats qui avaient présenté des oscillations thermiques tardives. Comme il s'agissait de jeunes soldats de vingt et un à vingt-trois ans, il n'y avait pas parmi eux d'individus atteints de maladies chroniques.

Parmi les 24 sous-officiers du 30e régiment (âgés de vingt et un à quarante-deux ans) 21 n'ont pas réagi.

Pour compléter nos observations, nous avons injecté les mêmes doses de vaccin à *quatre tuberculeux* (du service des maladies contagieuses de l'hôpital militaire « Regina Elisabeta » où l'un de nous remplissait les fonctions de médecin en

3e RÉGIMENT D'INFANTERIE

PREMIÈRE COMPAGNIE.

	AVANT LA 1re INJECTION	1re INJECTION (1 CENT. CUBE) Température après :							2e INJECTION (2 C. C.) Temp. après :			
		12 heures.	24 heures.	48 heures.	72 heures.	96 heures.	120 heures.	144 heures.	9 heures.	24 heures.	33 heures.	48 heures.
1. Bastea, A.	36°9	37°2	36°3	36°5	....	....	....	36°7	37°9	38°5	37° »	36°8
2. Stan, C.	36,5	36,4	36,5	....	....	....	....	36,8	37,5	37,6	36,8	
3. Costea, D.	36,7	37 »	36,1	36,7	....	....	....	36,8	36,5	37,1		
4. Saulescu, G.	37,1	37,2	37,8	36,3	....	....	....	36,4	36,6	36,6	36,9	
5. Popescu, A.	37,5	37,4	37 »	37,5	37.5	36,8	....	36,8	37,3	37,5	36,4	
6. Saulescu, I.	37,3	36,8	38,7	36,8	....	....	....	36,4	36,4	36,9	36,7	
7. Ionescu. D.	36,2	39,5	36,4	36,7	....	....	....	36,5	36,2	36,7	—	
8. Mrieea, I.	37,2	37,9	37,4	36,9	....	....	....	37,2	36,5	37,1	36,7	
9. Andrei, I.	36,2	36,2	36,5	37,2	36,7	....	....	37,2	—	36,5	36,9	
10. Rusu, R.	37,1	37,9	37,2	36,7	....	....	....	37,7	36,8	36,5	36,9	
11. Stana, D.	37 »	37,7	37,3	....	....	....	....	36,7	36,5	36,6	—	
12. Christian, A.	36,7	36,7	36,6	37,7	36,2	36,8	....	36,6	36,8	36,5	36,4	
13. Dumitiana, G.	37 »	38,5	36,8	37,2	37,9	36,5	....	37 »	—	36,9	36,6	
14. Ionita, B.	36,8	36,1	36,8	37,1	36,5	36,4	....	37,4	36,9	36,5	36,9	
15. Geana, D	37,2	37,6	37,2	....	....	....	....	37 »	37 »	37,1	36,9	
16. Radu, T.	37,1	37,5	36,1	....	....	....	....	36,4	36,4	36,5	36,2	
17. Marinescu, C.	37 »	36,9	37,5	38,1	....	....	....	36,4	36,5	37,1	36,9	
18. Paduraru, G.	37,6	36,9	37,4	37,6	37,4	36,9	....	36,8	—	36,9	37,7	36,8
19. Nache, N.	37,3	38,2	37,3	36,6	....	....	....	37 »	37,2	37 »	37 »	
20. Persoiu, I.	36,6	36,5	37,6	37,4	36,7	36,3	....	37,4	37,9	37,6	36,4	
21. Diaconu, F.	37 »	37,1	36,5	....	....	....	....	36,4	36,4	37,5	37 »	36,7
22. Stera, I.	37 »	38,4	37,4	38,1	38,2	37,7	....	37,2	37,5	37,3	36,8	
23. Popa, G.	36,7	36,6	37,8	....	....	....	....	36,8	37,2	36,5	36,8	
24. Navalici, I.	37,1	36,5	37,1	36,1	....	....	....	36,5	37 »	36,9	37 »	36,9
25. Manea, D.	36,6	38 »	37,5	36,7	....	....	....	36,3	36,8	36,5	36,4	
26. Georgescu, P.	37 »	37,8	38,2	38,2	37 »	37,8	37,4	36,5	37,9	36,7	37,2	36,8
27. Vanea, I,	37,2	37,1	36,2	....	....	....	....	36,5	36,8	37,1	36,6	
28. Craca, G.	36,7	36,7	37,5	37,8	36,7	....	....	36,9	37,2	37,1	37,3	36,5
29. Sandu, M.	36,7	37,5	—	36,7	....	....	....	36,6	—	38,1	37,4	36,4
30. Nita, R.	37,4	37,8	36,5	37 »	....	....	....	36,9	37,3	—		
31. Gheorghe, F	36,7	37,4	36,2	....	....	....	....	36,7	37,2	36,8	37 3	36,3
32. Ghenea, G.	36,8	38,5	36,8	36,8	....	....	....	37 »	37,5	37,1	36,4	
33. Cojocaru, G.	37,1	37,2	37,3	37,2	....	....	....	37,2	37,1	37,2	37,3	
34. Patrascu, I.	36,9	38,6	—	—	37,5	36,8	....	36,8	36,7	37,4	37,2	36,9
35. Cosma, A.	37,3	37,1	37 »	....	....	....	....	37 »	37,9	36,8	36,6	36,9
36. Stanaia, I.	37,1	37 »	37,5	36,5	....	....	....	36,6	36,3	36,8	36,2	
37. Gealap, A.	37,1	37,4	38,8	38,2	36,7	....	....	36,9	—	37,5	36,6	
38. Micu, I.	37,8	37,1	37,3	....	....	....	....	36,8	37,1	37,4	37,2	36,7
39. Tudorascu, A.	36,8	37,5	37 »	36,2	....	....	....	36,8	37,2	37 »	36,4	
40. Dinca, M.	36,9	38,3	37,4	36,8	....	....	....	36,5	37 »	37 »	36,8	
41. Caprita, C.	37,4	37,4	37 »	36,5	....	....	....	36,5	37,4	37,2	37,1	37 »
42. Grigore, G	36,9	38 »	36,9	37,6	36,2	....	....	36,5	36,4	36,7	36,4	37 »
43. Parvan, M.	37,3	36,8	37,1	36,8	....	....	....	37 »	36,5	37,2	37,2	
44. Caracaleanu, F.	37,4	37,4	37,2	36,2	....	....	....	36,7	36,9	36,9	37,5	36,5
45. Radu, D.	37,3	37,3	37 »	36,4	....	....	....	36,8	37,3	36,8	36,5	36,7
46. Fudulu, G.	37,3	37,6	37,4	36,8	....	....	....	36,8	37,3	37,4	37,2	36,8
47. Stefanescu, D.	37,1	37 »	36,5	36,8	....	....	....	36,5	37,7	36,8	36,6	36,4
48. Craciun, B.	—	37 »	37,8	37,8	....	....	....	37 »	—	38 »	37 »	36,6
49. Dolana, I.	37,3	—	36,8	36,8	36,3	....	....	36,7	37 »	38,1	36,9	
50. Vladescu, N.	36,7	37 »	36,2	37 »	....	....	....	36,5	37,2	36,7	36,2	
51. Sora, B.	—	—	—	—	....	....	....	36,8	37,6	37,3	37,1	36,3

30e RÉGIMENT D'INFANTERIE

PREMIÈRE COMPAGNIE

	AVANT LA 1re INJECTION	1re INJECTION (1 CENT. CUBE) Température après : 9 heures.	24 heures.	33 heures.	48 heures.	57 heures.	168 heures.	2e INJECTION (1 C. CUBE) Température après : 9 heures.	24 heures.	33 heures.	48 heures.	57 heures.
1. Nitu, J.	36,9	39 »	38 »	37,3	36,5	36,6	36,2	37,1	37 »	37,2	36,4	
2. Tiuca, M.........	37 »	37,2	37,4	38,2	37,1	36,9	36,5	37,7	37,8	39,6	36,8	36,9
3. Bitau, C.........	36,7	36,9	37,4	36,9	36,1	....	36 »	38,4	36,9	37,4	36,8	
4. Pinaru, G...,...	39,7	37,6	37,2	37,1	36,4	36,5	36,1	36,4	36,4	37,6	36,5	
5. Colonel Dtru	36,4	36,8	36,8	36,8	36,3	....	36,3	36,4	36,5	36,5	36,7	
6. Marfu, N.........	36,3	38,3	36 »	36.4	36,2	....	36,2	36,4	36,4	36,8	36,3	
7. Arasene, Gh., N..	36,2	36,5	36,7	37,4	36,3	36,6	36,3	36,4	36,6	36,7	36,6	
8. Basaraga, B.	36,7	37 »	36,8	36,8	36,3	....	36,5	38,3	37,1	36,6	36,4	
9. Muraru, N.	36,5	38 »	37 »	36,5	36,2	....	36,4	37,3	36,9	36,5	36,7	
10. Cernatescu, I....	36,3	36.9	36,4	36,1	36.2	....	36,2	37,7	36,3	36,8	36,5	
11. Bichi, C..........	36,4	38 »	36,5	37 »	36,3	....	36,4	36,7	36,5	37,1	36,6	
12. Mateescu, I......	36,2	36,8	36,5	36,3	36,4	....	36,2	37,2	36,3	36,6	36,3	
13. Mitu, I....,....	36,4	37,2	36,3	36,4	36,4	....	36,1	37,3	36,9	37 »	36,5	
14. Carmanici, O	36,6	36,7	36,8	36,5	36,3	....	36,5	36,5	36,1	36,7	36,3	
15. Visoiu, B.	36,3	37,8	36,4	36,4	36,2	....	36,1	38,7	36,6	36,6	36,7	
16. Olteanu, O.	36,7	37,1	37 »	36,8	36,4	....	36,4	37,3	37,3	38 »	36,6	
17. Bulugea, G.	36,8	37,5	37 »	36,5	36,4	....	36,6	37,2	37 »	36,7	36,9	
18. Bunea, J.........	36,8	37,3	36,8	37,1	36,5	....	36,2	37,2	37,2	37,5	36,7	
19. Zauta, G.	36,8	36,4	36,4	37,1	36,4	....	36,7	37,8	36,6	36,8	36,3	
20. Vieru, Z.........	37 »	36,7	36,3	37,1	36,9	....	36,3	36,7	36,7	37,5	36,7	
21. Sfetcu, V.	36,1	37,3	36,4	36,2	36,4	....	36,6	36,6	36,7	36,7	36,4	
22. Simioana, Gh....	36,3	36,2	36,3	36,8	36,2			37,4	36,4	36,8	36,5	
23. Buga, V.	36,4	36,8	36,3	36,3	36,4	....	36,4	37,6	36,4	36,4	36,6	
24. Costallu, G.	36,8	36,9	37,3	39,4	37,4	37,6	36,3	37 »	37,3	38,7	37,1	36,7
25. Florea, I.........	36,4	36,6	36,6	36,8	36,8	....	36,2	36,3	36,4	36,7	36,8	
26. Cotauda, E.	36,3	38,2	36,8	36,8	36,8	....	36,4	37,1	37 »	36,7	36,6	
27. Madrea, V	36,8	36,3	36,5	36,6	36,4	....	36,[illegible]	36,6	36,6	36,8	36,4	
28. Vanatorul, I.....	36,6	36,6	36,3	36,6	36,1	....	36,5	37 »	36,4	36,2	36,4	
29. Maorodrinescu, I.	36,3	36,5	36,3	36,4	36,4	....	36,2	38,7	36,9	36,5	36,3	
30. Feraru, A........	36,9	36,8	37,1	37,2	36,4	....	36,2	37,3	36,9	37,1	36,5	
31. Ionita, C.	36,3	36,4	36,6	36,7	36,2	....	36,6	37,6	37,2	36,9	36,7	
32. Glorgau, G.	36,5	36,6	36,5	36,7	36,2	....	36,1	37 »	36,7	36,5	36,9	
33. Mariu, B.........	36,7	38,8	37,3	37,1	36,5	....	36,9	36,9	38,4	37,1	36,2	36,4
34. Matei, I..........	36,3	36,9	36,3	36,3	36,1	....	36,4	37,8	36,3	36,6	36,6	
35. Vladescu, A	36,3	36,5	36,6	36,7	36,3	....	36,3	37 »	36,3	36,4	36,5	
36. Dumitrescu, P...	36,2	36,4	37,2	36,5	36,4	....	36,2	37,2	36,5	36,7	36,3	
37. Bunbeneci, L	36,3	36,1	37 »	36,8	36,2	....	36,7	38,7	37 »	36,8	36,8	
38. Nitescu, P.......	36,3	36,2	36.3	36,5	36,3	....	36,8	37,4	36,5	37,3	36,4	
39. Avramescu, G ...	36,5	36,3	36,6	36.8	36,3	....	36,5	....	37,1	37,4	36,5	
40. Cosac, P.........	36,9	36,6	36,9	36,9	36,3	....	36,3	37,3	36,6	36,8	36,6	
41. Danoiu, N	36,8	37 »	36,6	37,1	36,5	....	36,2	38,7	37,6	38,5	37,1	37 »
42. Preoveanu, G. ..	36,4	37 »	36,8	36,8	36,6	....	36,4	36,7	36,8	36,5	36,6	
43. Preda, P.........	36,7	36,7	36,4	36,3	36,5	....	36,5	37,1	36,3	36,3	36,5	
44. Fulga, I	36,4	38,4	36,9	37,2	37,1	37 »	36,1	37,8	37,1	37,7	36,9	
45. Ghilcucea, I......	36,7	37,1	36,3	36,9	36,8	....	36,1	36,8	36,5	37,3	37,3	
46. Dutescu, A.	36 »	36.4	36 »	36,6	36,7	....	36,7	36,4	36,3	36,3	37 »	
47. Ivascu, G........	36,7	36,9	36,2	36,5	36,2	....	36,2	36,4	36,[illegible]	36,8	36,4	
48. Donescu, P.	36,7	36,8	36,3	36,5	36,3	....	36,4	36,6	36,3	36,4	36,5	
49. Vasile, I,........	36,6	36,7	36,3	36,8	36,6	....	36,9	37,4	37,6	39 »	38,2	37,1
50. Andrei, G........	36,8	36,8	36,2	36,8	36,6	....	36 »	37,3	36,3	36,3	36,5	
51. Chelu, P. I.	36,8	36,7	36,7	37,1	37,1	36,7	36,5	36,8	37 »	37,5	37 »	
52. Safta, Gh. B. I ..	36,4	37,7	36,3	36,6	36,8	....	36,1	....	36,3	36,8	36,4	

second) : *les oscillations fébriles n'ont pas dépassé la moyenne observée chez les soldats bien portants.*

Dix soldats atteints d'oreillons (du même service), en pleine période d'infection, ne se sont pas montrés particulièrement sensibles au vaccin.

En ce qui concerne la prétendue *hypersensibilité des vaccinés* pour l'infection typhique, il faut rappeler : 1° *qu'au 3e régiment nous avons pratiqué les injections pendant l'épidémie même et que nous n'avons constaté pendant les jours suivants aucun cas nouveau;*

2° *Que tous les malades suspects, en observation de fièvre typhoïde, à séroréaction et hémoculture négatives, ont été vaccinés sans que l'on eût constaté ultérieurement des cas de typhoïde parmi eux.*

3° *Nous n'avons eu aucun cas de typhoïde parmi les infirmiers qui les soignaient et que nous avons vaccinés en même temps.*

Dans un seul cas nous avons constaté des phénomènes d'*anaphylaxie locale* à l'endroit de la première injection, vingt-quatre heures après la deuxième injection faite dans l'autre fesse. Les phénomènes dans l'anaphylaxie se traduisaient par *œdème dur et douloureux de la région*, accompagné d'un engourdissement du membre inférieur correspondant; en trente-six heures tout était rentré dans l'ordre. Nous avons constaté également trois cas *d'urticaire généralisé* trois quarts d'heure après l'injection. Ces phénomènes, qui n'ont duré que vingt-quatre heures, n'étaient pas en rapport avec l'état général antérieur.

Dans les selles des 31 *convalescents et des* 13 *infirmiers appartenant tous au* 3e *régiment, nous n'avons jamais constaté de porteurs de germes après la vaccination.*

Résultats des vaccinations.

Cinq mois plus tard, au retour de l'expédition de Bulgarie, les deux régiments (vaccinés au mois d'avril et mai 1913) rentrent au milieu d'une population civile infectée par la typhoïde. Les médecins des deux régiments demandèrent du

vaccin antityphique pour les hommes témoins non vaccinés par nous au mois d'avril et mai. On leur délivra *cette fois le vaccin chauffé une heure à 60 degrés* (Kolle-Pfeiffer); le laboratoire du professeur Cantacuzène avait épuisé la quantité de sérum antityphique nécessaire à la préparation du vaccin sensibilisé, qui avait servi à la préparation de 40.000 premières doses distribuées dans d'autres garnisons et dans la population civile. La plupart des hommes non encore vaccinés aux 3e et 30e régiments d'infanterie ont donc été inoculés avec le vaccin chauffé, on a vacciné de même dans le 3e régiment les recrues de la classe 1914 (1).

Huit mois après nos vaccinations, des médecins des deux régiments ont envoyé à la Direction générale du Service sanitaire de l'armée les renseignements suivants sur l'état épidémiologique de cette période (ces dates ont été mises en parallèle avec nos tableaux) :

1° Au 3e régiment : *Pas un cas parmi les soldats vaccinés avec le virus vivant sensibilisé*; 1 cas de typhoïde (soldat Floricica (V.), 10e compagnie) parmi les témoins non vaccinés par nous. Ce malade avait reçu, un mois avant, du *vaccin chauffé*.

2° Au 30e régiment : *Aucun cas parmi les soldats vaccinés au virus sensibilisé*; 8 *cas de typhoïde parmi les non vaccinés* (2) (nos témoins) : Vedelcu (I.), 3e compagnie (mort); Iordachi (Ion), 9e compagnie; Gheorghe (Andrei), 7e compagnie; Spataru (I.), 8e compagnie; Stoïca (V.), compagnie des mitrailleuses; Vlad (Nic), 9e compagnie; deux malades encore parmi les soldats mobilisés de ce régiment qui ont pris la maladie en Bulgarie même.

La recrue Caramet (V.), inoculée deux mois avant, avec le vaccin chauffé, prend la typhoïde au mois de février.

(1) Il a été fait deux et trois injections dans l'épaisseur des muscles de la fesse (1 cent. cube, 2 cent. cubes.) 1 cent. cube d'émulsion typhique correspondait à peu près à 1/50 de culture sur gélose, donc il renfermait environ deux fois plus de microbes que 1 cent. cube de vaccin.

(2) Sur ce nombre sept cas se sont produits dans l'intervalle (mai-octobre) qui a précédé les vaccinations, avec les bacilles chauffés, chez les soldats laissés comme témoins lors de la vaccination avec le vaccin sensibilisé.

Conclusions.

1° *On n'a constaté aucun cas de typhoïde parmi les 1298 soldats vaccinés avec le virus vivant de Besredka, tandis qu'un nombre égal de témoins non vaccinés ont eu 8 cas (1 suivi de mort).*

Il faut ajouter que, parmi ceux qui ont reçu du vaccin chauffé, on a constaté également 2 cas de fièvre typhoïde.

2° *Il n'y a pas eu de phénomènes d'hypersensibilisation, même quand on a pratiqué la vaccination au milieu de l'épidémie.*

Les porteurs de germes ne réagissent pas au vaccin autrement que les non porteurs.

3° *On n'a pas constaté d'éliminations de bacilles dans les selles des 44 vaccinés qu'on a fait examiner.*

TROISIÈME NOTE SUR LA CONSERVATION DES « TOXINES SOLUBLES »

par V. MORAX

Il nous a paru intéressant de publier, comme suite aux deux notes de MM. Nicolle et Truche (Conservation des toxines diphtérique et tétanique et de la ricine) (1), les documents suivants concernant la *toxine botulinique*.

Cette toxine avait été préparée, en cultivant, en milieu van Ermenghem anaérobie et en présence de carbonate de chaux, le bacille du botulisme. Le ballon ensemencé le 9 novembre 1899 et placé à l'étuve à 36° a été décanté et le liquide filtré le 28 novembre, soit après 19 jours de culture.

Le filtrat possédait la toxicité que voici (injections sous-cutanées) :

COBAYES DE 300 A 350 GR.

1/10 cent. cube.	mort en 12 heures.
1/100 cent. cube.	mort en 12 heures.
1/200 cent. cube.	mort en 2 jours.
1/500 cent. cube.	mort en 3 jours.

LAPINS DE 1.700 A 2.500 GR.

1/50 cent. cube.	mort en 2 jours et demi.
1/100 cent. cube.	mort en 5 jours.
1/300 cent. cube.	mort en 6 jours.

Une petite quantité de filtrat a été conservée, en tube scellé complètement rempli, dans l'armoire du laboratoire et titrée de nouveau en juillet 1913 (soit après plus de 13 ans et demi). La

(1) Ces *Annales*, t. XXIV, p. 921, décembre 1910 et t. XXVI, p. 1030, décembre 1912.

toxine s'est encore montrée active ainsi que l'indique le tableau suivant :

COBAYES DE 400 A 450 GR.

1 cent. cube.	mort en 1 jour et demi.
1/10 cent. cube.	mort en 2 jours.
1/100 cent. cube.	mort en 12 jours.

LAPINS DE 2.000 A 2.500 GR.

1 cent. cube.	mort en 1 jour et demi.
1/10 cent. cube.	mort en 4 jours et demi.
1/100 cent. cube.	mort en 12 jours.

Les symptômes observés en 1913 comme en 1899 correspondaient à la description de van Ermenghem. Donc aucune modification qualitative du poison. Quantitativement, on reconnaîtra que la baisse d'activité demeure bien faible, comparée au long temps de conservation et à l'absence totale de soins destinés à combattre le fléchissement.

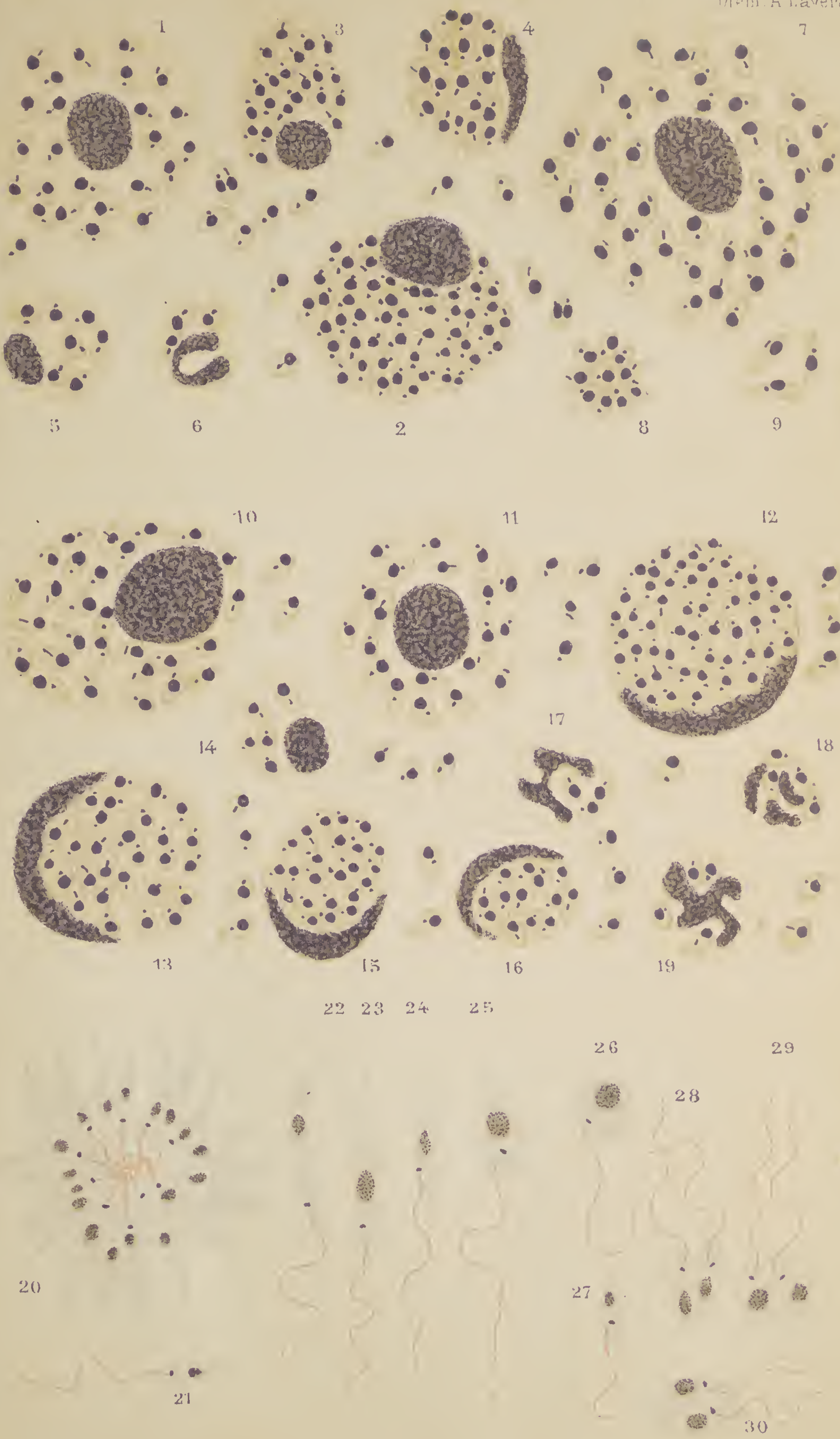
Forssmann dit avoir conservé la toxine botulinique 10 mois, en tube scellé, à l'obscurité, sans noter de modifications ; c'est le seul document connu de nous sur la question.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.



L. Maretheux, imp.



Boisgontier lith. Imp. L. Lafontaine Paris

29e ANNÉE MARS 1915 N° 3

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LA PRÉTENDUE DESTRUCTION DES BAC. DE KOCH DANS LE PÉRITOINE DES COBAYES TUBERCULEUX

par Ét. BURNET.

(Laboratoire de M. Metchnikoff.)

Lorsqu'on réinocule sous la peau d'un cobaye tuberculeux des bacilles tuberculeux, à condition de prendre une dose de bacilles assez forte et un cobaye dont la maladie ne soit ni trop récente ni trop ancienne, on observe, au lieu des phénomènes bien connus qui suivent une première inoculation, une nécrose rapide, une élimination par escarre et une guérison locale par cicatrice : c'est le phénomène de Koch, d'où est venue la découverte de la tuberculine.

Les expériences de réinoculation de l'organisme tuberculeux ont pris un regain d'intérêt depuis qu'on cherche le mécanisme de l'immunité antituberculeuse avec l'idée qu'elle se ramène au fond au phénomène de Koch.

A l'hypothèse d'une destruction complète des bacilles réinoculés s'opposent des expériences d'après lesquelles les bacilles de réinfection peuvent se conserver vivants et virulents dans les tissus des animaux qui ont acquis la résistance.

Si l'organisme tuberculeux est capable de détruire les bacilles tuberculeux réinoculés, la destruction s'accomplit-elle par cette lente digestion intracellulaire, dont Metchnikoff a

décrit le type classique chez la gerbille ; ou se fait-il une destruction rapide par les humeurs, qui serait une vraie bactériolyse ?

Dans ces derniers temps, ce sont les réinoculations dans le péritoine qui ont été le principal thème d'expériences, et elles ont suscité une sorte de résurrection du phénomène de Pfeiffer en matière de tuberculose. A en croire des travaux récents, des doses considérables de ce bacille tuberculeux dont on ne connaît que trop la nature réfractaire aux moyens d'action de l'organisme, seraient dissoutes, dans l'exsudat péritonéal du cobaye réinoculé, en quelques instants et avec une facilité inconnue des plus fragiles vibrions cholériques. A cette disparition rapide des bacilles flottants dans l'exsudat on oppose la résistance des bacilles englobés par les leucocytes ; et tandis que l'on affirme la toute puissance de l'action humorale, on montre que les phagocytes ont reçu la mission providentielle de préserver les bacilles. « Les bacilles tuberculeux, disent textuellement Arima et Sakamura (1), bien loin d'être détruits dans les leucocytes, semblent au contraire s'y multiplier progressivement, de telle sorte que les fameux phagocytes, au lieu d'être des cellules dévoratrices, sont pour les bacilles un abri contre les substances défensives et bactéricides de l'organisme ; ils peuvent même s'y multiplier. » Moins radicaux, Kraus et Hofer (2) admettent que la phagocytose existe comme la bactériolyse, mais que la phagocytose est le mode dominant chez l'animal neuf, la bactériolyse chez l'animal tuberculeux. « L'immunité bien démontrée de l'organisme tuberculeux vis-à-vis de la réinfection *pourrait* s'accorder *assez bien* avec l'accroissement du pouvoir bactériolytique. »

Ces derniers mots ne sont pas, on le voit, des plus catégoriques, et la plupart des auteurs font tout au moins des réserves sur cette action bactériolytique. Le problème ayant une grande importance au point de vue du mécanisme de la résistance à la tuberculose, ces expériences méritaient d'être reprises. Selon nous, les faits ont été défigurés au nom des

(1) Arima et Sakamura, Ueber die Bildung des Bakteriolysins durch T. Bazillen u. deren Gifte. *Centralbl. f. Bakter.*, Orig., t. LXXII, 1913, p. 389.

(2) Kraus et Hofer, Ueber die Auflösung von Tuberkelbazillen im Peritoneum gesunder und tuberkulöser Meerschweinchen. *Deutsche m. W.*, 1912, n° 26, p. 1227 et *Wiener klin. W.*, 18 juillet 1912, p. 1112.

théories. On n'a jamais pu fournir de cette bactériolyse humorale la démonstration la plus solide et la plus simple, qui consisterait à nous la montrer, comme on montre sous le microscope la réduction en granules des vibrions dans le péritoine du cobaye immunisé. Les expériences destinées à en donner la preuve indirecte ne soutiennent pas la discussion. Ce que l'on trouve dans les faits, c'est d'une part une action toxique qui n'est pas niable (mais personne ne peut avoir aujourd'hui la prétention de réinventer la tuberculine); d'autre part, ces actions cellulaires qui justement ne semblent dans aucune infection aussi évidentes que dans la tuberculose.

Décrivons d'abord les expériences de réinoculation telles que nous les avons observées bien des fois. Nous insisterons ensuite sur les principaux faits au nom desquels on affirme la bactériolyse.

Description des faits

Résorption progressive du liquide chez le cobaye neuf, presque complète en vingt-quatre heures; au contraire, augmentation de volume, au double, au triple et davantage, par exsudation péritonéale, chez les cobayes tuberculeux; mort en 5 à 6 heures, avec syndrome tuberculinique, des cobayes réinoculés à trop forte dose ou déjà trop peu résistants; longue survivance d'un certain nombre de cobayes réinoculés : inutile de décrire longuement ces phénomènes bien connus.

Les cobayes, inoculés, la première fois, de bacilles humains ou bovins, et porteurs de ganglions nets et déjà de lésions viscérales, ne doivent avoir une tuberculose ni trop jeune, ni trop vieille et confinant déjà à la cachexie. On fait les expériences avec diverses souches microbiennes; les bacilles de la première et de la seconde inoculation sont, selon les cas, les mêmes ou différents. On réinocule de 3 à 15 milligrammes de bacilles pesés frais, d'une culture de trois semaines environ, en suspension dans 5-10 cent. cubes d'eau physiologique. L'exsudat est prélevé au moyen de pipettes très fines, comme dans l'expérience de Pfeiffer, après 15, 30, 50, 90 minutes, 2, 3, 4.... 8 heures, par exemple. A chaque prise on dépose une goutte d'exsudat de cobaye réinoculé et une goutte d'exsudat de cobaye inoculé pour la première fois, sur une même lame, de façon à leur appliquer exactement la même coloration.

Au début, on voit beaucoup de bacilles libres dans un exsudat à peu près dénué d'éléments cellulaires; déjà après une

vingtaine de minutes, les bacilles libres deviennent moins nombreux, le liquide se peuple de lymphocytes et devient plus riche en albumine. A la fin de la 1re heure apparaissent les premiers polynucléaires, dont un certain nombre ont incorporé des bacilles; ils abondent de plus en plus à mesure que les bacilles deviennent plus rares. Les bacilles libres ont à peu près disparu à la fin de la 3e heure : on a quelque peine à en trouver. Vers la 5e heure, apparaissent de grands mononucléaires.

On voit, dès la première demi-heure, dans l'exsudat des cobayes tuberculeux, des bacilles libres qui prennent le Ziehl plus faiblement que les bacilles normaux. On voit un certain nombre de formes altérées, courbées, raccourcies ou amincies, comme rongées, ou même réduites en granules : ce sont les formes qui sont prises comme indices d'une lyse humorale. On voit dans les polynucléaires, puis dans les mononucléaires, des formes analogues, indices d'une lyse intracellulaire. Mais on peut affirmer catégoriquement, d'après des examens répétés, que non seulement de pareilles formes existent dans l'exsudat des cobayes neufs, mais qu'il y en a déjà dans la culture qui a fourni les bacilles.

Chez certains cobayes tuberculeux, ces formes altérées paraissent plus nombreuses que chez les témoins neufs; mais le fait, qui dépend pour une part des hasards des prélèvements, est loin d'être constant. Dans la généralité des cas, on peut mettre au défi un observateur non prévenu de distinguer sous le microscope l'exsudat de cobaye neuf de l'exsudat de cobaye réinoculé. Quant aux granulations, que décrivent Kraus et Hofer, dérivées de bacilles bactériolysés, apparaissant nombreuses dès la première demi-heure, ne gardant plus le Ziehl et prenant seulement la contre-coloration bleue, ces auteurs sont les seuls à les avoir vues.

Même au bout de sept, dix et vingt-quatre heures, si l'on a soin de faire la même coloration sur les deux exsudats, les bacilles englobés par les polynucléaires ne sont pas différents chez les cobayes neufs et chez les cobayes tuberculeux ; si chez ces derniers on voit des bacilles en partie réduits en granules (d'ailleurs parfaitement acido-résistants), ces images sont rares, et elles ne font pas défaut dans l'exsudat de cobayes neufs. Bien entendu la bonne méthode, dans ces examens, ne

consiste pas à rechercher exclusivement les bacilles altérés chez les cobayes tuberculeux et les bacilles normaux chez les cobayes neufs, mais aussi, avec non moins d'attention, les bacilles altérés chez les cobayes neufs et les bacilles d'aspect normal chez les cobayes tuberculeux. On voit alors s'évanouir les différences si nettes que les auteurs ont signalées entre les deux exsudats, et que j'avoue ne pas avoir vues malgré mon désir de les retrouver.

Ce n'est pas à dire que cobayes tuberculeux et cobayes neufs se comportent de la même façon, loin de là ; mais les différences ne sont pas inscrites sur les préparations et les phénomènes essentiels ne se voient pas au microscope. La différence, c'est que le cobaye tuberculeux fait une réaction tuberculinique, tandis que le cobaye neuf n'en fait pas.

Dans l'exsudat du cobaye tuberculeux, les polynucléaires phagocytants semblent moins nombreux que dans l'exsudat de cobaye neuf : mais il faut tenir compte de ce que l'exsudat étant plus abondant chez le cobaye tuberculeux les cellules y sont moins denses. Bien plus, si (les animaux étant sacrifiés de la 7ᵉ environ à la 24ᵉ heure) on centrifuge les exsudats de façon à isoler dans des tubes effilés de même calibre les éléments cellulaires, on voit que malgré son volume moindre le liquide d'exsudat du cobaye neuf renferme, en quantité absolue, beaucoup plus de cellules que l'autre, — de 3 à 5 fois plus. En outre, les bacilles s'agglutinent plus vite en amas chez le cobaye tuberculeux que chez le cobaye neuf. Il ne faut donc pas s'étonner de trouver chez le cobaye neuf, dans une goutte portée sur lame, cette plus grande abondance de polynucléaires phagocytants, qu'on a opposée à la prétendue disparition lytique chez le cobaye tuberculeux.

A l'autopsie des cobayes, sacrifiés de la 8ᵉ à la 24ᵉ heure, mêmes observations. L'exsudat très pauvre du cobaye neuf est plus riche en bacilles phagocytés que l'exsudat abondant du cobaye tuberculeux. Au point de vue de la conservation et de la coloration des bacilles, on peut trouver dans certains cas des formes plus endommagées, peut-être aussi plus faiblement colorées, chez le cobaye tuberculeux. La différence n'est pas frappante et elle n'est pas constante.

Mais il ne faut pas considérer seulement l'exsudat.

En dehors de l'exsudat, où sont allés les bacilles? 1° Si l'on gratte soigneusement avec une spatule le péritoine pariétal et la séreuse qui recouvre les anses de l'intestin, les préparations montrent la présence d'assez nombreux bacilles, par petits paquets (presque tous phagocytés) chez le cobaye neuf; on en trouve très peu ou on n'en trouve pas chez le cobaye tuberculeux.

Cette constatation se rencontre avec celle-ci, à laquelle Rist, Léon-Kindberg et Rolland (1) attachent une importance capitale : on ne voit jamais, chez les cobayes tuberculeux, qui ont survécu des semaines à la réinoculation, cette tuberculose à granulations du péritoine pariétal et de la séreuse que l'on voit à la suite d'une première inoculation dans le péritoine; il existerait donc chez le cobaye tuberculeux une immunité de la séreuse. Mais, comme on en trouvera la preuve plus loin, cette affirmation n'est pas exacte.

2° Si l'on fait des préparations de l'épiploon, on y trouve des masses énormes de bacilles; ces amas de bacilles (englobés par des leucocytes qui se sont déposés sur l'épiploon) paraissent encore plus massifs et se forment en tout cas plus vite chez le cobaye tuberculeux. Il y a aussi des masses de bacilles, phagocytés ou entourés de cellules, dans ces flocons ou dépôts fibrineux, qui sont plus abondants chez le cobaye tuberculeux que chez le cobaye neuf.

Ce qui saute aux yeux, c'est que la presque totalité des bacilles sont transportés sur l'épiploon.

Il est singulier que plusieurs observateurs n'en parlent pas ou n'en fassent qu'une mention secondaire. Ceux qui affirment la lyse humorale sont ceux qui parlent le moins de l'épiploon. Selon Arima et Sakamura, cet entraînement en masse des bacilles sur l'épiploon serait le propre du cobaye neuf. Kraus et Hofer n'en parlent pas. Manwaring et Bronfenbrenner (2) reconnaissent qu'une forte partie de bacilles gagnent l'épiploon. Rist parle de dépôts d'aspect fibrineux, extrêmement chargés de bacilles, qui flottent dans l'exsudat ou se déposent sur les

(1) Etudes sur la réinfection tuberculeuse, *Annales de Médecine*, t. I, f. 3 et 4, mars-avril 1914.

(2) Manwaring et Bronfenbrenner, On intraperitoneal lysis of tubercle bacilli, *Journ. of exp. Medicine*, t. XVIII, f. 6, p. 601.

viscères, il ne mentionne pas d'examens propres de l'épiploon.

Or on ne peut comprendre les préparations d'exsudat qu'en les comparant avec les préparations d'épiploon. Il est évident que les bacilles qui disparaissent si rapidement de l'exsudat sont entraînés sur l'épiploon par les cellules : c'est le sort banal de tous les microbes et, en général, de tous les corps étrangers introduits dans le péritoine, qu'il s'agisse de grains de carmin ou de bacilles de Koch. Si l'exsudat du cobaye tuberculeux s'appauvrit plus vite en bacilles et même en cellules, c'est que les bacilles sont entraînés plus vite et plus violemment sur l'épiploon.

Ce qui caractérise le cobaye tuberculeux, c'est la réaction tuberculinique ; or, on sait que la tuberculine provoque un fort appel de polynucléaires, comme le prouve l'examen histologique d'une cutiréaction (1). Quant aux bacilles des flocons et de l'épiploon, presque tous sont parfaitement colorés et d'aspect normal, et les formes altérées se trouvent chez le cobaye neuf comme chez le tuberculeux.

Lorsqu'on fait la réinoculation dans la plèvre au lieu de la faire dans le péritoine, on observe les mêmes faits. Le péricarde et les ligaments qui l'attachent au diaphragme jouent le rôle de l'épiploon, mais d'une façon beaucoup moins prononcée. Quelques heures après l'injection dans la plèvre, on trouve des bacilles qui sont passés dans la cavité péritonéale et se sont fixés sur l'épiploon.

Après injection dans le péritoine, on trouve des bacilles dans le sang. Ils y passent (dès la 4e heure) en assez grand nombre, puisque avec la méthode Staübli-Schnitter on les retrouve sans peine sur les préparations. On objectera qu'il y a des bacilles dans le sang des cobayes tuberculeux, même non réinoculés. Mais on en trouve (quoique peut-être en moindre quantité) dans le sang des cobayes neufs fraîchement inoculés dans le péritoine. Donc les bacilles sont en partie absorbés par les lymphatiques, contrairement à l'opinion de Manwaring et Bronfenbrenner.

En somme, la rapide disparition des bacilles libres est affaire de phagocytose et la presque totalité des bacilles sont entraînés

(1) E. Burnet, *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1907, t. LXII, p. 1156.

sur l'épiploon, avec plus d'énergie chez le cobaye tuberculeux que chez le cobaye neuf. L'aspect de l'épiploon, congestionné, tuberculinique, montre à quel point cet organe est en jeu. Pas de dissolution rapide dans les humeurs (surtout pas en 30 à 60 minutes, comme le disent Kraus et Hofer); et même pas de destruction cellulaire *rapide*. Quant à un phénomène de Pfeiffer dans le péritoine du cobaye tuberculeux, cela n'existe pas.

Y a-t-il des preuves directes d'une bactériolyse?

La réduction en granules des vibrions cholériques est facile à voir au microscope. De même, selon Deycke et Much, Kraus et Hofer, la « tuberculolyse », qui est déjà manifeste chez le cobaye neuf (une à plusieurs heures après l'inoculation), plus intense et plus rapide (déjà après 15-30 minutes) chez le cobaye tuberculeux. Ils voient dans les bacilles colorés en rose faible des granulations bleues « de telle sorte que les bacilles tuberculeux ressemblent beaucoup aux bacilles diphtériques... *Il semble* qu'il y ait dans le sérum des substances qui conditionnent la bactériolyse péritonéale ».

Aucun autre observateur n'a vu cette bactériolyse.

« Nous n'avons jamais vu ces granulations », disent Rist, L. K. et R. — Manwaring et Bronfenbrenner reconnaissent qu'à cause de l'épiploon il est bien difficile de prouver la bactériolyse. « La seule preuve directe que nous en ayons obtenue était fournie par des préparations d'exsudat de cobayes tuberculeux faites 30 minutes environ après l'injection. *Dans un cas,* on voyait de nombreux granules acido-résistants, fragments indubitables de bacilles. Quant à des granules non acido-résistants (granules de Much), on en voit habituellement chez les cobayes normaux comme chez les tuberculeux et on ne peut les prendre pour preuve d'une lyse spécifique ».

Il faudrait pouvoir exposer les bacilles aux humeurs du péritoine sans les exposer aux leucocytes : les sacs de collodion ordinaire ne peuvent servir, parce qu'ils empêchent la pénétration des humeurs telles qu'elles sont dans le péritoine. On peut au moins laisser affluer les humeurs tout en retardant l'arrivée des leucocytes (ce qui doit suffire, la bactériolyse étant donnée comme très prompte) en les enfermant dans un petit sac en papier-filtre : c'est le dispositif imaginé par Metchnikoff dans ses anciennes expériences sur la phagocytose du bacille

charbonneux chez la grenouille. On enroule un fragment de papier de façon à en faire un petit tube; quelques gouttes d'une suspension de bacilles y sont placées entre deux ligatures. Ce sac est retiré du péritoine au bout de plusieurs heures. Les choses s'y passent comme dans une petite cavité péritonéale : les bacilles disparaissent plus vite du sac chez le cobaye tuberculeux que chez le cobaye neuf : on les retrouve, phagocytés, sur les faces interne et externe de la paroi en papier. Le sac du cobaye tuberculeux est plus sanguinolent, plus chargé de leucocytes, tout comme un épiploon de cobaye tuberculeux. Le liquide qu'on en retire est plus clair que dans le cas du cobaye normal, les bacilles y sont (après plusieurs heures) agglutinés en amas : dans le sac du cobaye normal ils ne seront agglutinés au même degré que le lendemain.

Le contenu d'un sac, resté 2-3 jours dans le péritoine d'un cobaye tuberculeux, a tuberculisé aisément le cobaye sain. Si les humeurs sont capables de dissoudre en deux heures la plus grande partie de 10 milligrammes de bacilles que l'on injecte couramment dans ces expériences, comment des bacilles en quantité infiniment moindre résistent-ils plusieurs jours?

Voici une expérience encore plus démonstrative. Le bord de la feuille de papier enroulée et les ligatures du sac sont obturés au collodion, de telle sorte que le sac soit encore moins perméable aux leucocytes. Une faible quantité de bacilles — 1/10 de milligramme — passe dans 3 péritoines tuberculeux, en changeant de sac (pour éviter le colmatage des pores du papier). Il y a certainement une déperdition de bacilles, à cause des manipulations et parce que des leucocytes traversent le papier. A la fin, on ne trouve pas de bacille à l'examen microscopique, et cependant la faible quantité du liquide que l'on retire tuberculise le cobaye :

0,1 milligramme de bacilles tuberculeux dans un sac bordé au collodion. Séjour de 18 heures dans le péritoine d'un cobaye tuberculeux (tuberculose de 78 jours : à l'autopsie, ganglions, grosse rate tuberculeuse, tuberculose discrète des poumons).

Le contenu du sac est porté dans un sac neuf et mis dans le péritoine d'un 2e cobaye tuberculeux (tuberculose de 49 jours). Vu dans une goutte de ce contenu : polynucléaires, mononucléaires; polynucléaires phagocytants; bacilles en bon état. Séjour dans ce cobaye, 22 heures.

Report du contenu dans un sac neuf et chez un 3e cobaye tuberculeux

(tub. de 4 semaines). Vu dans une minime gouttelette quelques bacilles bien colorés, à l'intérieur d'un leucocyte.

Le lendemain, le contenu est prélevé. On lave soigneusement avec 3-4 gouttes d'eau stérile, à l'aide d'une pipette fine, l'*intérieur* du sac. Pas vu de bacilles au microscope. Inoculation sous la peau du ventre à deux jeunes cobayes qui sont sacrifiés après 51 jours. Tous deux sont tuberculeux (ganglions et rate; — poumons chez l'un) sans chancre, comme après les inoculations de doses très faibles.

Évaluation de la quantité de bacilles retrouvés dans le péritoine plusieurs heures après la réinoculation.

Manwaring et Bronfenbrenner prélèvent l'exsudat une heure et demie après l'injection, lavent le péritoine à l'eau citratée, réunissent les liquides de lavage, traitent par l'antiformine, centrifugent, mettent le culot en suspension dans un volume connu de sérum, ajoutent une quantité connue de leucocytes, et comptent les bacilles recueillis en rapportant leur nombre à celui des leucocytes. Ils retrouvent, en moyenne, dans le péritoine normal 106 p. 100 des bacilles injectés, c'est-à-dire qu'il y a eu croissance légère, et 65 p. 100 seulement dans le péritoine du cobaye tuberculeux. La différence, 35 p. 100, mesure la quantité détruite par le péritoine du cobaye tuberculeux.

Cette expérience est discutable. Il y a trois éléments en jeu, les bacilles en suspension, les bacilles fixés sur l'épiploon, les bacilles supposés détruits. Il ne suffit pas d'en évaluer un seul pour être renseigné sur l'un des deux autres. L'entraînement sur l'épiploon et la phagocytose étant plus intenses chez le cobaye tuberculeux, les deux exsudats ne se correspondent pas et l'évaluation des bacilles de l'exsudat ne donne pas la quantité de bacilles détruits. L'expérience serait bonne si, en lavant le péritoine, on pouvait reprendre les bacilles déjà fixés : mais *on ne lave pas l'épiploon*; après l'avoir agité fortement tour à tour dans de l'eau physiologique, de l'eau légèrement alcalinisée, de l'eau légèrement acidulée, on y retrouve encore une grande quantité de bacilles en paquets. Comment tenir compte aussi des flocons, chargés de bacilles, qui se forment dans le péritoine? De plus, l'antiformine n'agit pas favorablement. Si elle permet de faire d'abord une bonne suspension, la centrifugation agglutine le flocon fibrineux en un coagulum qu'il est impossible de dissocier parfaitement. Ensuite, la numération n'a plus de sens, tant est irrégulière la répartition des bacilles : comme au moment du prélèvement il n'y a que très peu de bacilles libres, presque tous ceux que l'on retrouve sont adhérents à des débris de cellules et forment des amas incomptables.

La technique suivante est plus simple et meilleure. On inocule au cobaye, avant de le sacrifier, un peu de solution citratée qui empêche la coagulation de l'exsudat; après prélèvement du liquide, on lave le péritoine à l'eau citratée; bien entendu, on ne reprend pas plus que dans le cas précédent

les bacilles fixés. Le liquide est amené à un volume connu et l'on y ajoute une quantité connue de globules rouges *nucléés*, par rapport auxquels on compte les bacilles. Inutile de centrifuger et de remettre en suspension. On soumet aux mêmes manipulations une suspension de bacilles identique à celles qui ont été injectées. La numération est plus facile qu'avec la première technique, mais il s'en faut encore de beaucoup qu'elle soit sûre. Même en agitant les liquides avec des billes de verre (quantités égales de billes pour chacun), on ne peut éviter la formation d'amas.

En opérant avec tout le soin possible, j'ai trouvé qu'il a disparu de l'exsudat, dès la fin de la première heure, non pas 40 p. 100, mais de 90 à 98 p. 100 de bacilles injectés, et que les chiffres sont à peu près les mêmes pour le cobaye neuf et le cobaye tuberculeux.

1. — Expérience sur des exsudats retirés après 1 heure.

	bac. retrouvés	disparus
	—	—
Suspension témoin	100	
Cob. neuf	8	92
Cob. tub. 1	2	98
Cob. tub. 2	1,8	98,2
Cob. tub. 3	10	90

2. — Expérience sur des exsudats retirés après 4 h. 1/2.

Suspension témoin	100	
Cob. neuf	2,5	97,5
Cob. tub. 1	4	96
Cob. tub. 2	2	98

Manwaring et Bronfenbrenner essaient de prouver la bactériolyse par une expérience *in vitro* qui met en jeu les cellules fixes du revêtement péritonéal. Ils plongent dans une suspension tiède de bacilles et mettent plusieurs heures à l'étuve des organes abdominaux de cobaye tuberculeux et de cobaye sain : ils trouvent que le nombre des bacilles augmente dans le cas du cobaye neuf et diminue considérablement dans le cas du cobaye tuberculeux.

J'ai répété cette expérience en employant tantôt l'intestin grêle, tantôt le tube digestif abdominal dans sa totalité, estomac, épiploon et cæcum. J'ai retrouvé à très peu près le même nombre de bacilles dans les deux cas. Un grand nombre disparaissent parce qu'ils s'attachent mécaniquement aux parois, où on les retrouve avec une forme et une coloration

normales. L'épiploon est resté inerte; après plusieurs heures d'immersion, on n'y voit ni figures de phagocytose ni aspects de bactériolyse. Même inertie de la part des cellules à noyau rond, desquamées du péritoine, que l'on recueille en grande quantité en centrifugeant le liquide; les bacilles mêlés aux cellules sont aussi bien colorés, dans les deux cas, que sur une préparation faite avec la culture d'origine.

Virulence des exsudats de réinoculation.

D'après Rist et ses collaborateurs, dans beaucoup de cas, on ne réussit pas à donner la tuberculose avec 1 cent. cube d'exsudat péritonéal (de cobaye tuberculeux réinoculé) où l'on découvre aisément, au microscope, des bacilles tuberculeux, mais altérés dans leur forme et prenant mal la coloration; on ne donne qu'une tuberculose très lente avec des exsudats contenant une grande quantité de bacilles : c'est qu'il n'y reste que peu d'unités virulentes. Donc les bacilles sont tués dans l'exsudat avant d'être détruits dans les leucocytes.

Sur 12 inoculations d'exsudats obtenus par réinoculation de 10 à 20 milligrammes de bacilles, ces auteurs ont eu 7 cas négatifs (exsudats de 3 jours, 3 1/2, 3 1/4, 7, 24, 20, 4 1/2 heures) et 5 positifs (exsudats de 5, 6, 6, 16, 16 heures).

J'ai constaté la virulence de l'exsudat dans tous mes cas sans exception, même avec moins de 1 cent. cube d'exsudats provoqués, non par 10 et 20, mais seulement par 5, par 3 et même 2 milligrammes de bacilles, et lors même qu'au microscope on ne voyait pas de bacilles dans le liquide inoculé. J'ajoute qu'en prélevant l'exsudat, je prenais soin de ne pas toucher avec la pipette les organes tuberculeux et l'épiploon chargé de bacilles, et de ne pas aspirer de ces flocons fibrineux, toujours riches en bacilles. Si les cobayes se tuberculisent lentement, le fait n'a rien d'étonnant, puisque l'exsudat s'appauvrit en bacilles très rapidement.

On tuberculise très bien les cobayes neufs auxquels on insère sous la peau un mince lambeau d'épiploon de cobaye réinjecté dans le péritoine depuis 3, 10, 15 et même 17 jours, et plus. (Tableau I.)

Tableau I. — **Virulence de l'exsudat péritonéal de réinoculation.**

Les 5 premiers cobayes sont d'une même série (*tub. de 45 jours*).

COBAYES	A REÇU	SACRIFIÉ après	VU BAC. T. dans l'exsudat.	QUANTITÉ inoculée sous la peau. par cobaye	à	RÉSULTATS
1	5mgr	8 h.	?	2,5 c.c.	2 cob.	Tub.. L'un a le 40e jour rate et poumons tuberculeux.
2	15mgr	20 h.	+	2 c.c.	1 cob.	Tub.. Mort le 38e jour. Rate et poumons tuberculeux.
3	5mgr	25 h.	+	4 c.c. / 2 c.c.	2 cob.	Tub. . Évolution lente.
4	2mgr	50 h.	+	0,25 c.c.	3 cob.	Tub. . Début lent.
5	2mgr	70 h.	+	0,33 c.c.	2 cob.	Tub. L'un, tub. lente; l'autre, mort le 12e jour ; bac. tub. dans ganglion inguinal.
6	3mgr	48 h.	+	2,5 c.c.	2 cob.	Tub.. L'un, mort prématurément; l'autre tub.
7	3mgr	48 h.	+	0,3 c.c.	2 cob.	Tub.. L'un, mort le 8e jour ; l'autre le 12e jour; ganglion avec bacille tuberculeux.
8	3mgr	72 h.	—	0,25 c.c.	2 cob.	Tub. lente.
9	Faible quantité contenue dans un sac en papier, deux jours dans le péritoine.				3 cob.	Tub.
10	15mgr	24 h.	+	0,33 c.c.	3 cob.	Tub.
11	15mgr	48 h.	+	0,75 c.c.	2 cob.	Tub.
12	15mgr	96 h.	+	1,7 c.c.	2 cob.	Tub.

Réinoculation de l'épiploon.

1	des cob. ci-dessus 11 et 12.	retiré après	2 jours.	2 cob.	Tub.
2	des cob. ci-dessus 11 et 12.	retiré après	4 jours.	2 cob.	Tub.
3	d'un cob. réin. avec 3 mgr.	retiré après	17 jours.	2 cob.	Tub.
4	d'un cob. réin. de 5 mgr . .	retiré après	4 jours.	2 cob.	Tub.

Épiploon de cob. tub. réin., ayant fait passages consécutifs par 3 péritoines de cobayes tuberculeux (b. bovin). 6 cob. Tub.

État du péritoine des cobayes tuberculeux qui ont survécu a la réinoculation péritonéale.

Lorsque les cobayes tuberculeux survivent à la réinoculation et qu'ils succombent ou sont sacrifiés au bout de plusieurs

semaines, l'autopsie, disent Rist, Léon-Kindberg et Rolland, « ne montre que des lésions viscérales dues à la diffusion de la tuberculose initiale. Elle ne permet de constater aucune lésion due à la réinfection intrapéritonéale : la séreuse est intacte et l'on n'y voit pas de granulations tuberculeuses ».

Je nie cette conclusion. Même si la séreuse était intacte et exempte de granulations, la réinfection laisserait des traces qui sautent aux yeux, car, dans tous les cas, on observe d'énormes lésions de l'épiploon, qui est transformé en un gros cordon ou en boules adhérents à l'estomac et aux anses intestinales. Lorsque l'on tranche transversalement ce cordon, la coupe est tout à fait pareille à celle d'un ganglion lymphatique en train de se caséifier. Il y a, sur la surface et sur la coupe de l'épiploon des amas considérables de bacilles qui ne paraissent pas plus dégénérés après quarante jours qu'après huit heures. On en voit qui paraissent endommagés, mais la grosse majorité prennent très bien la coloration ; il y a plus de formes longues qu'on n'en voyait dans la culture. En admettant qu'une partie des bacilles soient détruits, il est certain qu'un grand nombre se conservent et créent des lésions pour leur propre compte. Peut-on parler d' « intégrité absolue du péritoine ? »

Mais il n'est pas vrai que la séreuse soit intacte et exempte de granulations. La séreuse des cobayes tuberculeux réinoculés dans le péritoine ne se comporte pas autrement que celle des cobayes neufs : on trouve des granulations sur la face abdominale du diaphragme et sur le péritoine pariétal, plus ou moins nombreuses selon les cobayes, mais de même aspect et de même grosseur dans les deux séries. (Tableau II.)

Dans le tableau II, les 7 premiers cobayes doivent être mis à part, parce que, la 1re inoculation ayant été faite *sous la peau du ventre*, on pourrait dire qu'elle est la cause des granulations qui ont suivi la réinoculation dans le péritoine. Il n'en est rien, parce que chez ces cobayes la paroi musculaire était intacte. D'ailleurs, on voit par centaines, dans les laboratoires, des cobayes tuberculisés par inoculation sous la peau du ventre et n'ayant aucune granulation sur la séreuse, malgré la tuberculose de la rate, du foie et des ganglions lombaires.

Chez les 5 cobayes suivants, la première inoculation a été faite sous la peau de la cuisse.

TABLEAU II.

Nos	PREMIÈRE INOCULATION	RÉINOCULATION PÉRITONÉALE (3 milligr.)	SACRIFIÉS	ETAT DU PÉRITOINE	ÉTAT DES ORGANES
Cobayes tuberculeux réinoculés dans le péritoine.					
	Date, mai.	Date, juin.	Date, juil.		
1	9	22	20	Grosse corde épiploïque avec adhérences. Semis de granulations sur le péritoine pariétal.	Gros ganglions caséeux. Tuber. rate et poumons.
2	9	22	20	Gran. sur le diaphragme; peu sur le périt. pariétal. Corde épiploïque avec adhérences.	Id.
3	5	22	20	Très nombreuses gran. sur la paroi, pas sur le diaphragme. Epiploon ramassé avec adhérences.	Id.
4	5	22	6	Epiploon ramassé avec adhérences. Semis de gran. sur la paroi.	Id.
5	2	22	20	Epiploon ramassé avec adhérences. Gros semis de gran. sur le diaphragme et sur la paroi.	Id.
6	2	22	20	Les granulations tub. couvrent presque tout le périt. pariétal. Epiploon ramassé avec adhérences.	Id.
7	avril. 17	22	17	Granul. nombreuses sur diaphragme et péritoine. Epiploon ramassé avec adhérences.	Id.
8	mai. 30	22	6	Gran. sur le diaphragme et sur la paroi. Epiploon ramassé avec adhérences.	Id.
9	30	22	6	Nombreuses gran. sur le diaphragme et sur la paroi. Epiploon ramassé avec adhérences.	Id.
10	30	22	17	Epiploon ramassé et adhérent. Nombreuses gran. diaphr. et paroi.	Id.
11	30	22	17	Epiploon ramassé et adhérent. Semis de granul sur le diaphr. et sur une partie de la paroi.	Id.

Nos	PREMIÈRE INOCULATION	RÉINOCULATION PÉRITONÉALE (3 milligr.)	SACRIFIÉS	ÉTAT DU PÉRITOINE	ÉTAT DES ORGANES
12	30	22	17	Epiploon ramassé et adhérent. Semis de granul. sur le diaphr. et paroi.	Id.
Cobayes témoins, inoculés pour la première fois dans le péritoine même culture et même dose (3 *milligrammes*).					
	Date, mai.	Date.	Date, juin.		
1	30	»	†2 0	Granul. peu nombreuses sur le diaphragme et sur la paroi au-dessous du diaphragme. Epiploon ramassé, caséeux.	Début de tuberculose pulmonaire.
			juil.		
2	30	»	6	Epiploon ramassé, caséeux. Granul. plus nombreuses.	Id
3	30	»	6	Gran. seulement sur le diaphr.	Id.
4	30	»	6	Gran. seulement sur le diaphr.	Id.
5	30	»	6	Epiploon ramassé et adhérent. Gran. seulement sur le diaphr.	Id.
6	30	»	6	Gran. abondantes sur le diaphragme et sur la paroi.	Id.

Destruction des bacilles dans les cellules.

On ne peut qu'être d'accord avec Rist pour dire que s'il y a destruction de bacilles, c'est à l'intérieur des phagocytes. Nous avons vu aussi des phagocytes qui ne contiennent qu'une sorte de poussière acido-résistante : mais ils sont très rares, et même à l'intérieur des phagocytes les bacilles ne sont pas détruits en quelques heures.

Il y a un moyen de renforcer l'action du péritoine de cobaye tuberculeux sur les bacilles réinjectés, c'est de faire passer les bacilles de cobaye à cobaye. On ne peut insérer l'épiploon tout d'une pièce dans le péritoine du cobaye suivant, par laparotomie; les chances d'infection seraient trop grandes. Il faut inoculer l'épiploon avec une grosse aiguille, après l'avoir réduit en pâte et mis en suspension, ce qui n'est possible qu'après

l'avoir desséché dans le vide et broyé dans un mortier. En examinant le péritoine à chaque passage, on voit que les bacilles se raréfient rapidement et que leur forme s'altère. Ce n'est cependant qu'après le quatrième passage qu'ils sont rares au point d'être difficiles à trouver au microscope. On en voit encore au sixième passage. Il faut éviter une cause d'erreur, qui consisterait à érailler les organes du cobaye et à prélever quelques-uns de ses propres bacilles tuberculeux. Beaucoup de bacilles échappent aux prélèvements, et tous ceux qui manquent n'ont pas été détruits.

Des bacilles de troisième passage, ayant séjourné six jours dans les péritoines de cobayes tuberculeux et une dizaine de jours en dehors de l'organisme (dans la cloche à vide) ont tuberculisé les cobayes. Une inoculation de sixième passage (où quelques bacilles ont été vus au microscope) n'a pas tuberculisé.

La disparition des bacilles se fait à peu près de même au cours des passages par cobayes neufs : la raréfaction paraît moins rapide et il y a moins de formes altérées. Des cobayes inoculés avec une inoculation de quatrième passage ne sont pas devenus tuberculeux.

Il est certain que les cellules du péritoine détruisent peu à peu les bacilles tuberculeux dans les conditions de cette expérience, où les tissus sont tués à chaque passage. Il n'y a pas de différence du tout au tout entre cobayes neufs et cobayes tuberculeux.

Résistance aux réinoculations.

Il n'y a donc pas de destruction humorale, et la destruction phagocytaire est très lente. Les auteurs qui croient à une lyse rapide expliquent la résistance aux réinfections par l'action d'anticorps circulants, n'est pas démontré. Manwaring et Bronfenbrenner, qui ont fait en vain toutes sortes d'expériences pour les mettre en évidence, concluent qu'il est seulement possible qu'ils soient pour quelque chose dans la bactériolyse, laquelle s'accomplirait surtout sous l'influence des cellules fixes du péritoine. Le même pouvoir lytique, ajoutent-ils, appartient sans doute aussi à d'autres cellules fixes de l'organisme. Mais si cette lyse plus ou moins rapide existait chez un

organisme résistant, comme l'homme, et soumis presque toujours à des réinfections faibles, comment les réinfections réussissent-elles — s'il est vrai qu'elles sont la cause de la phtisie — à moins de croire qu'elles soient toujours « endogènes » et que vis-à-vis d'elles l'organisme n'ait pas de défense?

A ces expériences qui consistent à réinoculer dans le péritoine de cobayes tuberculeux des doses colossales de bacilles, s'en opposent d'autres, très nombreuses, qui se rapprochent beaucoup plus des conditions naturelles, tant par les doses employées que par la durée des observations. Ce sont les essais de bovovaccination d'après Behring. Depuis l'expérience de Melun, de Vallée et Rossignol, jusqu'aux expériences récentes de Calmette (1), en passant par celles de Römer, il a été montré dix fois pour une que les bacilles inoculés pour éprouver les animaux vaccinés et résistants peuvent bien ne pas causer de tubercules, mais qu'ils se conservent vivants et virulents même pendant 18 mois. Ces faits ne sont pas en faveur d'une bactériolyse.

La « tuberculolyse » ne s'accorde pas non plus avec les observations classiques de Metchnikoff sur la digestion lente des bacilles dans les cellules géantes du spermophile et dans les cellules géantes de la rate de la gerbille (2). Il est vrai que dans ces observations il ne s'agit pas de réinfections, et Kraus et Hofer attribuent la résistance des primo-infectés à la phagocytose, et spécialement la résistance des réinfectés à la bactériolyse humorale. Mais les corps calcaires, analogues à ceux de la gerbille, décrits par Schüppel et autres dans les ganglions tuberculeux chez l'homme, répondent-ils nécessairement à des lésions de première infection?

S'il est exagéré de dire que pour le tuberculeux le bacille est *exclusivement* toxique, il est certain qu'il l'est à un haut degré, comme il ne l'est pas pour le cobaye neuf. Rist a montré que l'exsudat de réinoculation intrapéritonéale exerce une action toxique, violente et immédiate, sur le cobaye tuberculeux, et non sur les cobayes normaux. Il faut donc un organisme tuberculeux, et pour préparer le poison, et pour le recevoir. Mais

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1914.
(2) *Pathologie comparée de l'inflammation*, p. 392 et suivantes.

rien ne prouve que l'action toxique ait pour condition une fonte rapide de corps bacillaires. Les actions dites *anaphylatoxiques*, quelle qu'en soit la nature, ne consistent pas essentiellement en une destruction de microbes.

J'ai fait aussi des essais variés pour créer la sensibilité à la tuberculine chez le cobaye neuf en le préparant avec de l'exsudat péritonéal de cobayes tuberculeux réinoculés. Inoculé dans le péritoine avec 3-5 cent. cubes de cet exsudat, le cobaye neuf fait presque toujours une réaction thermique (de 1, 1 1/2 et même 2 degrés), vers la quatrième heure ; jamais de malaise visible, jamais la mort, jamais de sensibilité à la cuti-réaction. On obtient d'ailleurs la même élévation thermique en injectant des exsudats préparés avec le *B. subtilis*.

En somme, la seule notion que nous ayons acquise depuis que Koch a décrit le phénomène qui porte son nom est celle d'une action lytique dont le mécanisme reste inexpliqué et dont nous ne connaissons que l'effet toxique. Je ne dis pas que toutes les lésions tuberculeuses d'un homme tuberculeux doivent être mises sur le même plan, je ne nie pas cet état d'*allergie* dont on abuse peut-être. On peut, avec Besançon et de Serbonnes (1), donner un sens bactériologique à la notion de terrain tuberculeux. Mais c'est autre chose que de la bactériolyse, et l'exsudat péritonéal de réinoculation ne montre pas ce que l'on a voulu y voir.

Conclusions.

1. Il ne se produit pas, dans le péritoine des cobayes tuberculeux réinoculés, de phénomène analogue au phénomène de Pfeiffer.

2. Les formes altérées que l'on trouve dans le péritoine du cobaye tuberculeux réinoculé ne font défaut, ni chez le cobaye inoculé pour la première fois, ni dans la culture qui fournit les bacilles.

3. Les bacilles qui disparaissent de l'exsudat ne sont pas

(1) *Annales de Médecine*, t. I, f. 1, et *Journal de Médecine interne*, 10 juin 1914.

détruits. La presque totalité est phagocytée et fixée sur l'épiploon. Il en passe dans le sang par les voies lymphatiques. La phagocytose et l'entraînement sont plus intenses et plus rapides chez le cobaye tuberculeux que chez le cobaye neuf.

4. Les cobayes tuberculeux qui survivent à la réinoculation intrapéritonéale présentent d'énormes lésions de réinoculation sur l'épiploon. Leur séreuse n'est pas intacte, ni exempte de granulations tuberculeuses, ni douée d'immunité. Elle se comporte comme celle des cobayes neufs.

5. L'exsudat de cobaye tuberculeux réinoculé est toujours virulent.

6. Les bacilles détruits le sont par phagocytose; la destruction par les cellules est une digestion lente.

7. Les réinoculations massives dans le péritoine des cobayes ne représentent pas ce qui se passe dans les réinfections naturelles. Les réinoculations aux bovidés vaccinés et résistants ont établi que les bacilles d'épreuve se conservent longtemps vivants et virulents dans les tissus.

Juillet 1914.

L'ACIDE BUTYRIQUE ET LA SCLÉROSE

par George-E. COLEMAN.

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

(Avec la planche III.)

Depuis les recherches de Gilbert et Lion (1), en 1889, et de Josué (2), en 1900, de nombreux chercheurs ont réussi à produire des lésions sclérotiques dans les organes d'animaux au moyen d'injections de microbes et de leurs toxines, ainsi que de substances chimiques diverses. Pendant ces dernières années, un grand nombre de recherches ont été entreprises dans le but d'élucider le rôle joué par certaines substances, élaborées dans l'organisme même, dans la production de la sclérose.

Pour Metchnikoff, le facteur qui joue le rôle prédominant dans la production de la sclérose en général et de la sénilité précoce, est l'intoxication du système due à l'absorption continuelle, à petites doses et pendant une longue période, des produits de la putréfaction intestinale.

En parlant, en particulier, de l'indol et du phénol, Metchnikoff (3) dit que, les bactéries de l'intestin produisant seulement de petites quantités de ces substances toxiques, l'influence de ces dernières sur l'organisme ne peut se manifester que sous la forme d'intoxication chronique, ce qui suppose, de leur part, une action cumulative.

Cette idée de Metchnikoff n'est plus une hypothèse, mais un fait bien établi, démontré par ses propres expériences avec le paracrésol (4), ainsi que par celles de plusieurs autres observateurs.

Dans la production expérimentale de l'artério-sclérose, on a

(1) Gilbert et Lion, Artérites expérimentales. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1889.
(2) Josué, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1903.
(3), (4) Metchnikoff, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIV, 1910, p. 761.

donné généralement des doses massives de diverses substances pendant une période relativement courte. Afin de vérifier la théorie de l'action cumulative de petites doses de poisons intestinaux, on a dernièrement, poursuivant les recherches abordées par Metchnikoff lui-même, administré de faibles quantités de ces substances toxiques pendant une période de plusieurs mois.

Le travail soigné de Dratchinski (1) sur l'indol est particulièrement intéressant et démonstratif à ce point de vue. Dratchinski, après avoir éliminé toutes les causes possibles d'erreur, a démontré que l'absorption de 0,04 gramme d'indol par jour (par voie buccale) pendant une période de plusieurs mois, provoque des lésions incontestables dans l'aorte et les autres organes de cobayes.

A côté des corps aromatiques, l'activité des microbes intestinaux se traduit par la production d'autres substances qui passent sans cesse dans la circulation et qui peuvent jouer un rôle très important dans la production de l'artério-sclérose, l'usure et le vieillissement de l'organisme en général.

Sur la proposition du professeur Metchnikoff, nous avons essayé de déterminer si l'acide butyrique, qui est produit plus ou moins constamment dans le tube digestif, joue un rôle quelconque dans la production de la sclérose.

Dans l'étude des différentes maladies et au cours de recherches expérimentales, on a trouvé l'acide butyrique en quantités considérables dans l'organisme humain, soit sous forme d'acide libre, soit en combinaison avec d'autres substances, v. Rubner [cité par Schmidt et Strassburger (2)] a trouvé que, dans les matières fécales de personnes au régime du pain, 79,2 p. 100 de l'acidité totale sont dus à l'acide butyrique et 20,8 p. 100 à l'acide acétique. Les graisses et les acides gras volatils se trouvent dans le sang, dans la leucémie et dans d'autres conditions pathologiques. D'après van Noorden (3), von Jaksch a trouvé l'acide butyrique dans le sang de malades atteints de cirrhose du foie et Herter (4) a fait une étude assez

(1) Dratchinski, Contribution à l'étude de l'influence de l'indol sur les scléroses. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVI, juin 1912.

(2) Schmidt und Strassburger. *Die Fæces des Menschen.*

(3) Van Noorden. *Handbuch der Path. des Stoffwechsels*, vol. II.

(4) Herter, *Bacterial Infections of the Digestive Tract.*, 1907.

complète de la fermentation saccharo-butyrique dans les intestins. On trouve cet acide dans les matières fécales de l'homme normal, dans la sueur et les tissus musculaires. Suivant van Noorden, l'urine humaine de vingt-quatre heures contient 60 milligrammes d'acides gras. D'après Hammarsten (1) aussi, l'urine en contient de petites quantités.

Une partie de l'acide butyrique que l'on trouve dans le tube digestif est produite par l'action des ferments digestifs. Le lait contient 4 p. 100 de graisse, dont 4 à 5 p. 100 sont constitués par la tributyrine; le beurre contient 2 p. 100 d'un mélange de graisses et d'acides volatils, qui sont mis en liberté par la lipase du suc pancréatique.

D'autre part, l'acide butyrique est un produit ordinaire de la putréfaction. L'acide se forme non seulement dans les milieux qui contiennent de la graisse et des hydrates de carbone, mais aussi dans les milieux relativement simples auxquels on a ajouté des acides aminés (2).

Parmi les anaérobies qui produisent la plus grande quantité d'acide butyrique, on peut mentionner le *Bacillus butyricus*, *B. Welchii* (*perfringens*), *B. putrificus* et *B. sporogenes* de Metchnikoff, qui, tous, se trouvent plus ou moins fréquemment dans le tube digestif. Quelques-uns de ces microbes paraissent agir directement sur les sucres, tandis que les autres agissent seulement sur de l'acide lactique précédemment formé. Comme l'acide lactique se forme en assez grande quantité pendant la digestion et qu'il peut servir de source d'acide butyrique, la question prend une importance considérable.

A côté de la fermentation d'hydrates de carbone, ces microbes décomposent plus profondément la molécule d'albumine avec la formation d'acides volatils. La réaction acide de l'intestin grêle (acides lactique, butyrique, acétique et succinique), due à la fermentation des graisses, hydrates de carbone, fibrine, cellulose et peut-être de lécithine (3), est maintenue en dépit des sécrétions alcalines qui sont déversées pendant la digestion. Une partie de ces acides est neutralisée aussitôt formée, mais une partie considérable est absorbée et peut, quand elle n'est

(1) Hammarsten, *Lehrbuch für phys. Chim.*, Wiesbaden, 1910.
(2) Frouin et Ledebt, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, vol I, p. 24.
(3) Herter, *loc. cit.*

pas brûlée dans le sang, fixer de l'alcali et produire de l'acidose.

Suivant Daunby (1) l'acide butyrique (et l'acide acétique), même en quantités notables, produisent seulement une stimulation locale, et Combe (2) admet « avec la grande majorité des observateurs, que la proportion d'acides gras dérivés de la putréfaction des composés azotés est en trop petite quantité pour causer la moindre intoxication de l'organisme ». Par contre, Herter pense que tous ces acides sont irritants et insiste sur leur faculté d'accaparer les alcalis de l'organisme, quand ils sont absorbés en quantité. Il dit, de plus, que ces acides sont neutralisés par les bases formées pendant la putréfaction intestinale et spécialement par l'ammoniaque, car on trouve le butyrate d'ammoniaque en quantités considérables dans les intestins. Or ce savant croit que ce sel en quantité excessive agit comme un irritant. Brunton et Harley (3) sont du même avis que Herter. Celui-ci trouve que l'acide butyrique est particulièrement irritant lorsqu'il se forme dans l'estomac. Nos expériences confirment cette observation. Harley dit d'ailleurs : « Évidemment, tous ces acides sont absorbés dans la circulation générale et, dans des conditions ordinaires, ils sont assez rapidement oxydés. Dans les cas où ils se sont formés en excès ou lorsque l'absorption par la paroi du tube digestif est excessive, il se peut que les quantités soient trop grandes pour être brûlées dans le sang et, dans ce cas, on les retrouve dans l'urine. Dans ces circonstances, ils peuvent exercer une action toxique. »

Nous avons fait des recherches pour déterminer s'il y avait élimination d'acide butyrique avec l'urine ou les fèces. D'après Herter, l'organisme oxyde les acides volatils très facilement, mais lorsque l'acide butyrique se trouve dans l'urine, c'est sous la forme de sel d'ammoniaque. Même dans le cas où il y aurait une absorption excessive d'acide, tant que le pouvoir oxydant de l'organisme n'est pas diminué, on ne pourrait pas compter trouver une augmentation de l'excrétion d'ammoniaque par l'urine consécutive à cette absorption excessive. Nos expériences ont confirmé cette manière de voir.

(1) Daunby, Alimentary Toxæmias. *British. med. Jour.*, 25 mars 1913.
(2) Combe, *Intestinal auto-intoxication*, American edition, 1910.
(3) Harley, The Toxines of the Alimentary Canal. *Proc. Roy. Soc. Med.*, mars 1913.

Dans une expérience avec le butyrate de calcium (deux doses de 0,225 gramme par la bouche pendant deux jours), l'urine du cobaye en expérience, aussi bien que celle du témoin, étaient acides au tournesol, mais le produit de distillation de l'urine des deux cobayes, après qu'on eût éliminé l'indol, le scatol et le phénol, n'a donné aucune odeur d'éthyl-butyrate après l'addition d'acide sulfurique et d'alcool.

Nous avons fait des expériences sur des cobayes qui recevaient de l'acide butyrique, en quelques cas avec l'urine et les fèces séparément (mais qui ne correspondaient pas à la même période) et aussi avec un mélange des quantités totales d'urine et de fèces excrétées pendant une période donnée. Nous nous sommes servis pour ces expériences de cobayes qui recevaient 0,0044 gramme d'acide par jour. L'urine, dans tous les cas, était alcaline. Dans un seul cas seulement (5 cobayes pendant trois jours), nous avons trouvé l'acide butyrique (éthyl-butyrate dans le distillat). Dans d'autres cas, nous avons trouvé, par la méthode de Duclaux, de l'acide acétique et formique en proportions égales (0,1 gramme p. 100 de chacun); ou encore une partie d'acide valérianique pour vingt parties d'acide acétique.

Dans un cas, le mélange d'urine et de matières fécales nous a donné une partie d'acide butyrique pour dix parties d'acide acétique.

Nous avons fait une expérience avec des fèces seulement (60 grammes recueillis de 14 cobayes pendant trois heures) et nous n'avons pas trouvé d'acide butyrique.

D'après Herter, il n'y a pas de doute que le distillat d'une émulsion du contenu du tube digestif humain normal contient surtout de l'acide acétique et, d'ordinaire, on trouve une quantité modérée d'ammoniaque, en quantité à peu près suffisante pour neutraliser cet acide acétique. Larue et Labbé (1) ont trouvé une quantité moindre d'acides volatils chez les personnes qui sont au régime végétarien et, d'après van Noorden, Langstein et Meyer auraient trouvé que les fèces de malades atteints de catarrhe intestinal contiennent plus d'acides volatils qu'il ne s'en trouve dans les fèces de personnes normales. La présence de plus grandes quantités d'acide acétique paraîtrait indiquer un processus fermentatif d'origine bactérienne dans les intestins.

Malheureusement, nos expériences ont été interrompues avant que nous ayons pu faire des témoins avec des cobayes normaux et n'ont donc pas, par conséquent, de signification spéciale.

De cette brève revue de la formation de l'acide butyrique dans l'organisme, il résulte que cet acide et ses sels peuvent être irritants pour le tube digestif et toxiques, lorsqu'ils sont absorbés en quantité plus ou moins considérable. Par le fait qu'il se produit, de temps en temps, des variations dans la production d'acides et dans l'intensité des phénomènes d'absorption chez chacun de nous, il est difficile de saisir le moment où il s'agit de conditions pathologiques ou normales. Souvent, pendant la durée de la vie, quand la santé, en général,

(1) Larue et Henri Labbé, L'acidité volatile des matières fécales. *Arch. des maladies de l'appareil digestif*, 1912, p. 329.

paraît bonne, il y a des périodes plus ou moins longues pendant lesquelles, sans être précisément malade, on ne se porte cependant pas très bien. Il se peut que, justement pendant de telles périodes, les effets cumulatifs de cette auto-intoxication se soient produits sur l'organisme, dont le résultat final se manifeste si fréquemment par la sclérose.

Nous allons maintenant considérer nos propres expériences.

Bien que les lésions artérielles spontanées, spécialement celles d'un caractère calcaire, se rencontrent plus souvent parmi les herbivores que parmi les omnivores, nous nous sommes servis du cobaye pour nos expériences.

Il peut y avoir un avantage particulier dans le choix de ces animaux dont les aliments sont riches en sels de chaux, car ils sont spécialement portés à avoir des lésions sclérotiques avec calcification finale.

Selon l'opinion de Loeper et Boveri (1), « cette surcharge calcique est une des raisons de l'extrême facilité avec laquelle on réalise la calcification artérielle (chez le lapin) avec des doses minimes de substances toxiques, tabac, ergotinine, plomb et surtout adrénaline, qui n'ont aucun effet chez le chien et le chat, par exemple ».

Plusieurs savants ont fait des recherches pour déterminer la proportion de cobayes (supposés normaux) qui présentent de l'athérome spontané de l'aorte. Weinberg (2) n'en a pas trouvé un seul cas parmi 236 cobayes examinés.

On peut faire un grand nombre de coupes, même au niveau des valvules et quelquefois ne trouver qu'une petite partie de l'artère présentant des plaques cartilagineuses ou autres lésions caractéristiques. La partie où ces lésions existent peut, par conséquent, très facilement échapper à l'examen.

En étudiant les aortes, nous avons d'habitude fait, dans la région des valvules, des coupes à peu près tous les 2 millimètres, car il nous paraît plus important de faire un grand

(1) Loeper et Boveri, La chaux et les artères. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 22 juin 1907, p. 1160.

(2) Weinberg, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 5 décembre 1908, p. 561.

nombre de coupes à ce niveau que d'en faire quelques-unes seulement dans cette partie, et un petit nombre au hasard dans les autres parties de l'artère.

Dratchinski (1), qui a fait une étude assez complète des aortes de 54 cobayes normaux en a trouvé, en moyenne, 50 p.100 avec des plaques cartilagineuses. Chez 22 cobayes d'un poids au-dessus de 450 grammes, il a trouvé 99 p. 100 de cartilagination.

Sur nos 12 cobayes témoins qui ont été placés dans les mêmes conditions que nos animaux d'expérience, il a fallu en éliminer trois, pour diverses causes.

Les cobayes pesaient en moyenne 560 grammes. Tous ont été chloroformés, la stérilité du sang du cœur vérifiée. Les frottis de leurs organes, qui étaient macroscopiquement normaux, ne montraient pas de micro-organismes. Ce sont les conditions que nous nous sommes imposées dans nos expériences. Sur ces 9 cobayes, nous en avons trouvé 4 avec plaques cartilagineuses nettes, et 1 dont le commencement de cartilagination était évident.

Aucun de ces animaux ne montrait de dépôts calcaires ni dans l'aorte, ni dans les autres organes. A noter que, dans le cas de notre plus lourd cobaye (735 grammes) tous les organes paraissaient parfaitement normaux. Nos résultats nous ont donné une proportion d'au moins 50 p. 100. Tout en admettant que le nombre de cobayes est trop petit pour fonder une opinion sur la proportion de cobayes dans lesquels on trouve des lésions sclérotiques de l'aorte, nous croyons, en comparant nos résultats à ceux de Dratchinski, qu'au moins 50 p. 100 des cobayes d'un poids au-dessus de 350 grammes présentent l'athérome spontanée de l'aorte.

Comme l'acide butyrique est un fort irritant, et étant donné que dans nos expériences nous nous étions proposé de voir s'il était possible de produire une intoxication chronique, nous devions, vu l'action véritable de l'acide butyrique, déterminer une dose à donner qui ne provoquerait chez nos animaux aucune manifestation visible de malaise ou d'empoisonnement.

(1) Dratchinski, *loc. cit.*

Le tableau suivant résume les expériences faites pour déterminer cette dose :

COBAYE	POIDS	DOSE (grammes)	DOSE (cent. cube)	SURVIE	PERTE de poids	MODE d'injection	
3	630	0.088	1 »	2 h 1/2.	»	Péritoine.	Congestion d'organes et intestins. Liquide sanguinolent dans le péritoine.
4	520	0.044	0.5	4 h. 1/2.	»	—	Comme le n° 3. — La vessie et les intestins contiennent du sang.
5	400	—	—	23 heures.	»	—	Organes, comme les nos 3 et 4. — Intestins très congestionnés.
6	380	—	—	36 heures.	40 gr.	Bouche.	Comme le n° 5. — Liquide sanguinolent dans l'estomac.
7	420	—	—	3 jours.	35 gr.	Sonde.	Foie brûlé. Estomac brûlé et ulcéré. Poumons congestionnés.
8	500	0.07	(1)	4 jours.	70 gr.	—	Inflammation de l'estomac et des intestins. Poumons congestionnés.
9	480	0.088	1 »	20 heures.	»	—	Tous les organes très brûlés.

(1) Il est très probable que le n° 8 a rejeté une partie de sa dose.

Dans tous les cas il y avait de la dyspnée, de l'hypothermie et les mouvements du cœur étaient ralentis.

Comme nous supposions que l'acide, ingéré en petite quantité, serait promptement neutralisé, et comme nous voulions donner une dose dont une partie, au moins, passerait dans la circulation, nous avons commencé nos expériences avec une dose de 1 cent. cube (0,011 gramme) d'acide par jour, en solution 1/8 normale. Nous avons injecté cette quantité à l'aide de la sonde dans l'estomac à six cobayes et une quantité double à une autre série de six cobayes.

Mais dans les deux séries la dose s'est montrée être trop forte. En moins d'un mois plusieurs animaux étaient morts et les autres étaient si maigres qu'il a fallu rejeter tous ces cobayes et recommencer une nouvelle série.

A l'autopsie, dans la plupart des cas, il y avait une ulcération ou une inflammation de l'estomac, une congestion plus ou

moins sévère des poumons et, en général, un état hémorragique de l'intestin grêle.

Dans toutes nos autres expériences nous avons introduit l'acide dans la bouche à l'aide d'une seringue et avec les précautions nécessaires.

Dans la série suivante (série A) nous avons dilué la solution de façon que 1 cent. cube contînt 0,0011 gramme d'acide, et nous avons donné cette dose chaque jour, à dix-sept cobayes. Une autre série (série B) de douze cobayes a reçu une dose double, soit : 0,0022 gramme d'acide. Après un mois, comme les cobayes paraissaient bien supporter ces doses et comme la quantité d'acide nous semblait très petite, nous avons doublé la dose de chaque série en donnant la même quantité de liquide. Comme les cobayes de la série B (2 c. c. = 0,0044 gramme) ont commencé bientôt à maigrir, nous avons dû au bout d'un mois revenir pour les deux séries à la dose primitive.

Ne pouvant donner que de très petites quantités d'acide libre, nous avons décidé de donner un sel d'acide butyrique, espérant de cette façon pouvoir donner une quantité beaucoup plus grande. Comme on le verra, nous avons pu, en effet, donner sous cette forme vingt-trois fois plus d'acide qu'à la série B et quarante-six fois plus qu'à la série A.

Morel (1) a montré que les butyrates et les autres sels de calcium des acides gras volatils étaient plus toxiques que les sels minéraux de calcium. De plus, le butyrate de calcium était plus toxique que les butyrates des corps monovalents.

D'après lui, les carnivores sont trois fois plus sensibles à ces sels que les herbivores. Il a trouvé que, pour le cobaye, la dose mortelle de butyrate de chaux, en injection péritonéale, était de 0,4 gramme par kilogramme d'animal, ou de 0,1 gramme pour un cobaye de 250 grammes (butyrate de Ca, à 5 p. 100 dans l'eau physiologique.)

Nous avons décidé de nous servir de ce sel dans nos expériences, car il nous semblait que, s'il y avait une tendance à la production de lésions de sclérose et spécialement de dépôts calcaires dans l'aorte par l'acide butyrique en doses très faibles, la présence dans l'organisme de calcium en excès concourrait

(1) Morel, Recherches sur les propriétés biologiques des sels de calcium, des acides gras saturés. *Journ. Phy. et Path. générale*, mai 1912, p. 453.

à faciliter cette production. Loeper et Boveri (1) avaient déjà montré qu'en donnant des sels de chaux en même temps que des doses très faibles d'adrénaline, des lésions étendues se produisaient dans l'aorte des lapins, pendant que les témoins qui n'avaient reçu que de l'adrénaline étaient absolument indemnes. Ils ont fait aussi la contre-épreuve, en donnant une dose d'adrénaline toxique à des lapins au régime normal et en prenant comme témoins des lapins dont le régime contenait peu de chaux (pommes de terre, carottes, son). Ils ont trouvé des dépôts calcaires seulement dans l'aorte des lapins au régime normal. Ces savants ont conclu de leurs expériences que « la surcharge calcique, en effet, ne crée pas la pétrification artérielle, mais elle en facilite singulièrement la production et en augmente l'étendue ».

Dans ses expériences, Ott (2) ajoutait du phosphate de calcium aux substances irritantes employées, en même temps qu'il châtrait (3) ses animaux afin de faciliter la production de lésions artérielles.

Comme témoins de notre expérience avec le butyrate de chaux, nous donnons actuellement à une autre série d'animaux la même quantité d'acide sous forme de sel de sodium. Nos résultats seront communiqués plus tard.

Le tableau ci-dessous résume d'autres expériences faites pour

COBAYE	POIDS	DOSE (grammes)	MODE d'injection	SURVIE	
1	345	0.25	Sonde.	Rétabli.	Hypothermie. Rétabli au bout de 4 jours. Perte : 20 grammes.
2	300	0.375	—	30 heures.	Dyspnée. Estomac normal. Intestins un peu irrités.
3	260	0.5	—	47 heures	Dyspnée. Poumons très congestionnés. Intestins très hémorragiques.
4	420	0.175	Péritoine.	2 h. 1/4	Températ. tombée de 2 degrés. Dyspnée. Viscères très hémorragiques.

(1) Loeper et Boveri, *loc. cit.*

(2) Ott, L'arterio-sclérose gastrica ed intestinale. *Tesi de libera Docenza*, Sassari, 1910.

(3) Weinberg et Vaillard, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1908, ont trouvé que l'athérome des artères de chevaux châtrés n'est pas aussi fréquente que dans le cas de chevaux entiers.

déterminer la dose de butyrate de Ca que l'on peut donner, sans produire de signes visibles d'empoisonnement. Nous nous sommes servi d'une solution à 12,5 p. 100 dans de l'eau distillée (pour l'injection intrapéritonéale, dans de l'eau physiologique).

La dose donnée au n° 4 est la dose mortelle de Morel.

A la suite de ces expériences, nous avons décidé de donner à nos cobayes (série C), par la bouche, tous les jours, 0,5 cent. cube d'une solution à 12,5 p. 100 (soit 0,0625 gramme) de butyrate. Pendant ces expériences, les animaux sont restés en bonne condition et ont gagné en poids comme les témoins.

Comme nous l'avons déjà dit, seuls les animaux dont le sang et les organes étaient stériles et dans lesquels il n'y avait pas d'anomalies d'un caractère anatomo-pathologique, ont été pris en considération.

Dans aucun cas, nous n'avons trouvé de lésions macroscopiques de l'aorte.

Nous nous sommes servi de la technique usuelle pour la préparation et la coloration des coupes. Comme matières colorantes nous avons employé généralement l'hématéine-éosine et la méthode de van Gieson, et, pour les fibres élastiques, le colorant de Weigert. Pour l'examen de l'aorte abdominale, nous avons trouvé la méthode suivante très commode. L'aorte, de la crosse jusqu'aux branches des artères fémorales, est fendue avec des ciseaux et roulée autour d'un objet cylindrique quelconque.

On la lie avec un fil, on dégage l'objet cylindrique central et on fixe. Une seule coupe, faite dans le sens longitudinal de l'artère, dans la partie centrale de ce rouleau, montrera la plus grande partie de l'aorte thoracique et abdominale (pl. III, fig. 1).

Pour diverses causes nous n'avons pu prendre en considération pour nos résultats que cinq cobayes dans la série A, cinq dans la série B, et huit dans la série C. Tous ces animaux ont survécu jusqu'à la fin de l'expérience et ont été chloroformés ou saignés à blanc.

Le tableau ci-dessous contient un résumé de nos expériences avec le résultat de l'examen histologique des organes.

SÉRIE	DOSE PAR JOUR	NUMÉRO	POIDS INITIAL	POIDS FINAL	DURÉE de l'expérience (en semaines)	ACIDE TOTAL ou BUTYRATE INJECTÉ	AORTE cartilagination nette	AUTRES LÉSIONS dans l'aorte	SCLÉROSE au début	REIN (lésions)	DÉPÔTS CALCAIRES (rein)	FOIE (lésions)	OBSERVATIONS
A	1 c.c. = 0,0011 gr. acide.	16	240	320	12	0gr132	+	+	»	+	—	+	
		17	335	470	16	0.165	—	+	+	+	—	»	(1)
		18	280	570	29 1/2	0,243	—	+	+	+	+	»	
		64	240	480	29	0,25	—	+	+	+	—	»	
		65	230	470	25 1/2	0,21	—	»	+	+	+	»	
B	2 c.c. = 0,0022 gr. acide.	14	255	360	12	0gr266	—	+	+	+	»	»	
		49	245	600	24	0,35	+	+	»	+	+	+	
		51	225	480	17	0,31	+	+	»	+	—	+	
		52	230	530	24	0,35	—	—	»	»	—	—	
		54	280	590	26	0,38	+	+	»	+	+	+	
C	0,5 c.c. = 0,0625 gr. butyrate de Ca (2).	1	300	505	22	9gr1	—	+	+	+	+	+	
		2	305	395	22	9,1	+	+	»	+	+	+	
		3	245	610	21	8,6	+	»	»	+	+	+	(3)
		4	320	475	13	5 »	—	+	»	—	—	+	
		5	295	570	20 1/2	8,5	+	+	»	+	+	+	
		6	280	470	19	7,75	—	+	»	+	+	+	
		9	290	560	19 1/2	8 »	+	+	»	+	+	+	
		10	290	435	16 1/2	6,56	—	+	+	+	+	+	

(1) Dégénérescence et hémorragie.
(2) 0,0625 gramme de butyrate de Ca correspond à 0,052 gramme d'acide butyrique.
(3) Une partie de trachée calcifiée.

Les autres lésions dans l'aorte consistaient souvent en dégénérescence graisseuse.

Deux cobayes de la série A, deux de la série B et cinq de la série C, montraient des lésions pour la plupart peu marquées de la rate.

L'étude histologique de nos coupes nous a donné les résultats suivants :

Aorte. — Nous dirons d'abord que chez aucun de nos cobayes, nous n'avons constaté de dépôts calcaires dans l'aorte, bien que dans 55 p. 100 de nos cas, nous ayons rencontré de tels dépôts dans, ou entre les tubes du rein ; et une fois, une grande partie d'une coupe de trachée que nous avons coupée par hasard avec l'aorte, a montré de la calcification. Dratchinski a trouvé que presque toujours ces dépôts calcaires dans les reins de ses cobayes coïncidaient avec la calcification des artères. L'absence de la calcification de l'aorte n'exclut pas nécessairement une sclérose même assez généralisée. Nous sommes du même avis quant à l'absence de la cartilagination en foyers circonscrits. De l'étude de nos coupes, il paraît résulter que, dans la plupart des cas, ces foyers cartilagineux se sont développés après que les viscères, surtout le rein, ont présenté un état plus ou moins scléreux. En parlant des organes, Josué, (1) dit que « pendant qu'il existe des cas où la sclérose est manifestement causée par les lésions artério-scléreuses des artères il en est d'autres au contraire, où les altérations artérielles et les lésions scléreuses se sont produites simultanément ».

On a très rarement trouvé des foyers cartilagineux sans lésions d'autres organes. Au contraire, dans beaucoup de nos cobayes, nous avons trouvé de la sclérose avancée des organes sans la moindre trace de cartilagination dans l'aorte.

Comme les plaques cartilagineuses de l'aorte sont généralement accompagnées d'autres lésions d'artères ou d'organes, il est probable qu'elles représentent des lésions postérieures aux lésions viscérales ou bien témoignent d'une irritation particulièrement intense de l'aorte, dans le cas où elles apparaissent simultanément avec celles-ci.

D'ordinaire, alors qu'il y avait de la sclérose marquée des

(1) O. Josué, *Traité de la Sclérose*. Paris, 1909.

organes et en absence de cellules cartilagineuses, nous avons trouvé que, dans l'aorte ascendante ainsi que dans l'aorte abdominale ou thoracique, les cellules musculaires avaient subi une dégénérescence graisseuse. Ces cellules sont fréquemment altérées, le protoplasma est creusé de vacuoles rondes qui sont souvent périnucléaires. Josué et surtout Klotz (1) ont discuté cette forme de dégénérescence. Celui-ci croit que c'est un des modes principaux de la production de la calcification. Quelquefois, nous voyons que le tissu musculaire ne conserve plus sa forme compacte usuelle : il est creusé de larges espaces remplis d'une substance séreuse. On considère que ceci est dû à un œdème local de la tunique musculaire. Dans des cas où nous n'avons pu constater des cellules cartilagineuses nettes, nous avons trouvé dans ces espaces (généralement dans l'aorte ascendante), des cellules musculaires ou conjonctives dégénérées, qui présentaient çà et là l'aspect hyalin de cellules cartilagineuses. Souvent, il y a un épaississement diffus de cette partie de l'aorte.

Dans quelques cas, assez rares d'ailleurs, nous avons trouvé de petits anévrismes et quelquefois une oblitération presque complète de la lumière des *vasa vasorum* qui passent dans l'adventice.

Quelquefois aussi, les fibres élastiques sont déplissées ; elles paraissent tendues et, avec un fort grossissement, montrent un commencement de dégénérescence. D'après Manouélian (2), « la calcification est un mode de dégénérescence des fibres élastiques ». Nous mentionnons tous ces changements de l'aorte, parce que, si l'on considère le résumé donné ci-dessus seulement au point de vue de la présence ou de l'absence de foyers cartilagineux ou calcaires, on pourrait très bien se tromper quant aux lésions actuellement présentes dans les aortes de nos cobayes.

Il se peut très bien que l'acide butyrique et ses sels ne produisent d'eux-mêmes que de la sclérose. C'est ainsi que d'après Boveri (3), la syphilis n'engendre que de la sclérose et

(1) P. Klotz, *Jour. Exp. Medicine*. Vol. VIII, n° 2, mars 26.

(2) Manouélian, Recherche sur l'athérome aortique. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVII, janvier 1913.

(3) Boveri, Lésions aortiques d'origine syphilitique chez le singe. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*. t. XXV, 1913, n° 27, p. 102.

que d'autres causes, agissant sur ce terrain syphilitique, peuvent donner lieu au développement d'athéromes.

En général, toutes les lésions décrites se rencontrent moins fréquemment dans les aortes des séries A et B (que les organes soient lésés ou non), que dans les aortes de la série C. Si l'on avait pu donner aux séries A et B l'acide en plus grande quantité ou peut-être pendant une plus longue période, il est possible qu'on ait pu produire chez ces cobayes une condition sclérotique aussi avancée que celle des cobayes de la série C, à laquelle nous avons donné de 23 à 46 fois plus d'acide, sous la forme de sel de calcium.

Rein. — On voit dans les coupes du rein tous les stades de sclérose. Très souvent, il y a une infiltration de mononucléaires et surtout de cellules conjonctives néoformées autour des glomérules et des vaisseaux. Les glomérules eux-mêmes sont pour la plupart respectés, mais quelquefois on les trouve rétractés et contenant des vacuoles dues au dépôt de graisse.

Cette dégénérescence graisseuse s'observe aussi dans le parenchyme de la substance corticale. Très souvent, on trouve des foyers fortement hémorragiques. La prolifération de tissu conjonctif autour des glomérules n'est pas très fréquente, mais ce tissu prolifère fortement autour des artérioles, envoyant des prolongements très épais dans le parenchyme voisin (pl. III, fig. 3). Çà et là, loin des artères visibles dans les coupes, on trouve de grosses plaques de tissu conjonctif. Il paraît, dans ces cas, que la sclérose est consécutive aux lésions dégénératives de certaines parties du rein, et que ces plaques représentent des cicatrices ou un remplissage du tissu rénal dégénéré (pl. III, fig. 3).

Nous avons déjà parlé des dépôts calcaires dans ou entre les tubes. Ils se sont rencontrés dans 75 p. 100 des cas de la série C et dans 40 p. 100 de ceux des séries A et B. Nous avons trouvé ces petits dépôts calcaires dans les reins de deux cobayes de la série A et de deux cobayes de la série C, dont les aortes ne montraient pas de cellules cartilagineuses. Nous avons également vu un épaississement des petites artérioles du rein dans plusieurs de nos coupes.

Foie. — Les lésions du foie sont caractérisées surtout par la dégénérescence graisseuse du parenchyme, par des hémorragies, soit en grands foyers, soit plus ou moins généralisées, ainsi que par la prolifération de tissu conjonctif autour des canaux biliaires et des vaisseaux sanguins. Souvent, il y a des parties où il ne reste presque plus de protoplasme de cellules hépatiques dont les noyaux se colorent mal ou pas du tout (pl. III, fig. 4). Le foie est généralement lésé autant ou plus que le rein dans les cas où l'on rencontre des lésions dans les deux organes. Très souvent, lorsque le rein et le foie accusent un état de sclérose assez avancé, nous n'avons pas rencontré de foyers cartilagineux dans l'aorte. Il est intéressant à noter que, après l'ingestion de doses mortelles d'acide, les lésions les plus notables du foie ont été caractérisées par l'hémorragie diffuse et une nécrose généralisée.

Dans la plupart des cas, les capsules surrénales et la rate ont été peu lésées.

Nous pouvons constater qu'en général les lésions que nous avons trouvées dans les organes de nos cobayes ne diffèrent de celles qui se rencontrent dans les cas de sclérose spontanée du cobaye que par leur degré d'intensité.

Séries A et B. — Dans ces séries il y a eu 40 p. 100 de cartilagination. Même dans les cas où il y avait de l'athérome (par athérome nous entendons seulement les *grosses lésions* des grandes artères caractérisées par des foyers cartilagineux ou des dépôts calcaires) ou des lésions caractéristiques de la sclérose commençante de l'aorte, il nous a paru que les lésions des organes étaient un peu plus marquées que dans les cas de nos témoins dans les mêmes conditions. Nous ne voulons pas insister sur l'effet de l'acide que nous avons pu donner à ces deux séries. Il est tout à fait possible qu'une grande partie de l'acide ingéré (généralement à jeun) ait été neutralisée dans l'intestin et n'ait pas passé dans la circulation générale. Mais, du fait que nous avons trouvé des dépôts calcaires dans les reins de deux cobayes dont les aortes n'ont pas montré d'athérome (nous n'avons jamais constaté ce fait dans la sclérose spontanée du cobaye), et que nous avons rencontré les cellules cartilagineuses plus souvent dans les aortes de la série B que

dans celles de la série A, dont les cobayes ont reçu moins d'acide, nous sommes porté à croire que l'introduction de l'acide butyrique libre dans le tube digestif a contribué, jusqu'à un certain point, à la production des lésions observées.

Il se peut que, parmi les cobayes, il y ait des individus qui, pour diverses causes physiologiques, ou à cause de leur régime, aient une prédisposition à la sclérose, mais chez lesquels elle ne se soit pas encore développée.

Dans ces conditions, l'acide butyrique qui, par lui-même, ne serait pas toxique aux doses données, pourrait faciliter la production de sclérose chez ces individus (1).

Série C. — Dans la série C, sans aucun doute, les cobayes dont l'aorte ne présentait pas d'athérome, les lésions des organes dénotaient un état de sclérose beaucoup plus avancée que ne le montraient les témoins dans les mêmes conditions. Bien que nous n'ayons trouvé de la cartilagination de l'aorte que dans 50 p. 100 des cas, nous considérons qu'au moins 90 p. 100 des cobayes de cette série étaient sclérotiques.

Conclusions.

Vu les faibles quantités d'acide supportées par nos animaux, vu aussi le nombre restreint que nous avons pu étudier, et en tenant compte surtout du fait que la sclérose spontanée, avec ou sans athérome, se rencontre chez une grande proportion (jusqu'à 90 p. 100 dans certains lots) de cobayes normaux, nous ne nous croyons pas autorisé à tirer une conclusion définitive de nos recherches sur l'action de l'acide butyrique libre.

En revanche, nous croyons que l'ingestion d'acide butyrique sous la forme du sel de calcium, aux doses que nous avons données, provoque, dans l'aorte et les autres organes des cobayes, la sclérose généralisée, mais non l'athérome proprement dit. Cependant, pour les raisons que nous venons de

(1) Ott (*loc. cit.*) a montré que l'irritation locale d'un organe pendant une longue période peut produire la sclérose des vaisseaux relatifs à cet organe.

mentionner ci-dessus, cette conclusion doit être acceptée sous réserves.

En terminant ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements à M. le professeur Metchnikoff pour le sujet de recherches qu'il a bien voulu nous proposer et pour l'accueil qu'il nous a fait dans son laboratoire.

EXPLICATION DE LA PLANCHE III

Fig. 1. — *Aorte.* La plus grande partie de l'aorte thoracique et abdominale dans une seule coupe. G = 10/1.

Fig. 2. — *Foie.* Cobaye 9. Série C. Forte prolifération de tissu fibreux riche en cellules embryonnaires et mononucléaires. Commencement de dégénérescence graisseuse autour du canal biliaire. G = 250/1.

Fig. 3. — *Rein.* Cobaye 1. Série C. Sclérose assez avancée. Prolifération de tissu conjonctif aux dépens du parenchyme rénal. Foyer de mononucléaires englobés par le tissu scléreux. G = 60/1.

Fig. 4. — *Foie.* Cobaye 54. Série B. Tissu hépatique nécrosé avec dégénérescence hyaline du tissu conjonctif. Hémorragie généralisée. Avec un plus fort grossissement on pouvait voir des restes de cellules hépatiques et conjonctives dégénérées. G = 80/1.

Fig. 5. — *Rein.* Cobaye 3. Série C. Sclérose au début de la substance corticale. G = 250/1.

Fig. 6. — *Foie.* Cobaye 9. Série C. Prolifération de tissu conjonctif consécutive à la phase primaire de cirrhose. G = 60/1.

Fig. 7. — *Rein.* Cobaye 54. Série C. Dépôts calcaires dans et entre les tubes. Hémorragie diffuse. Tissu conjonctif contenant un foyer de cellules embryonnaires. G = 60/1.

L'INFLUENCE DES ACIDES SUR L'ACTIVITÉ DE LA MALTASE DIALYSÉE

par W. KOPACZEWSKI.

Au cours de nos recherches sur la dialyse de la maltase [1], nous avons constaté que la dialyse enlève à la maltase de Kôji (takadiastase du commerce) 94,5 p. 100 de ses matières solides et 74,4 p. 100 de ses cendres. Nous avons pensé que, lorsqu'on étudie l'activité de la maltase en présence des acides, il était probable qu'une si grande quantité d'impuretés devait avoir une certaine influence sur les quantités optimales des acides à employer. Il fallait donc, pour préciser les conditions exactes de l'activité diastasique, chercher un moyen de rendre négligeables les impuretés qui accompagnent toujours les préparations des diastases.

G. Bertrand et ses élèves [2] ont cherché à réaliser ce problème : 1° par la pureté des préparations; 2° en employant de très petites doses de diastases pauvres en cendres et très actives, et 3° en vérifiant avec des solutions diastasiques bouillies, ajoutées au lieu de l'eau, si l'influence d'impuretés est encore notable.

Nous avons pensé qu'on pourrait atteindre le même but en dialysant les solutions diastasiques brutes du commerce.

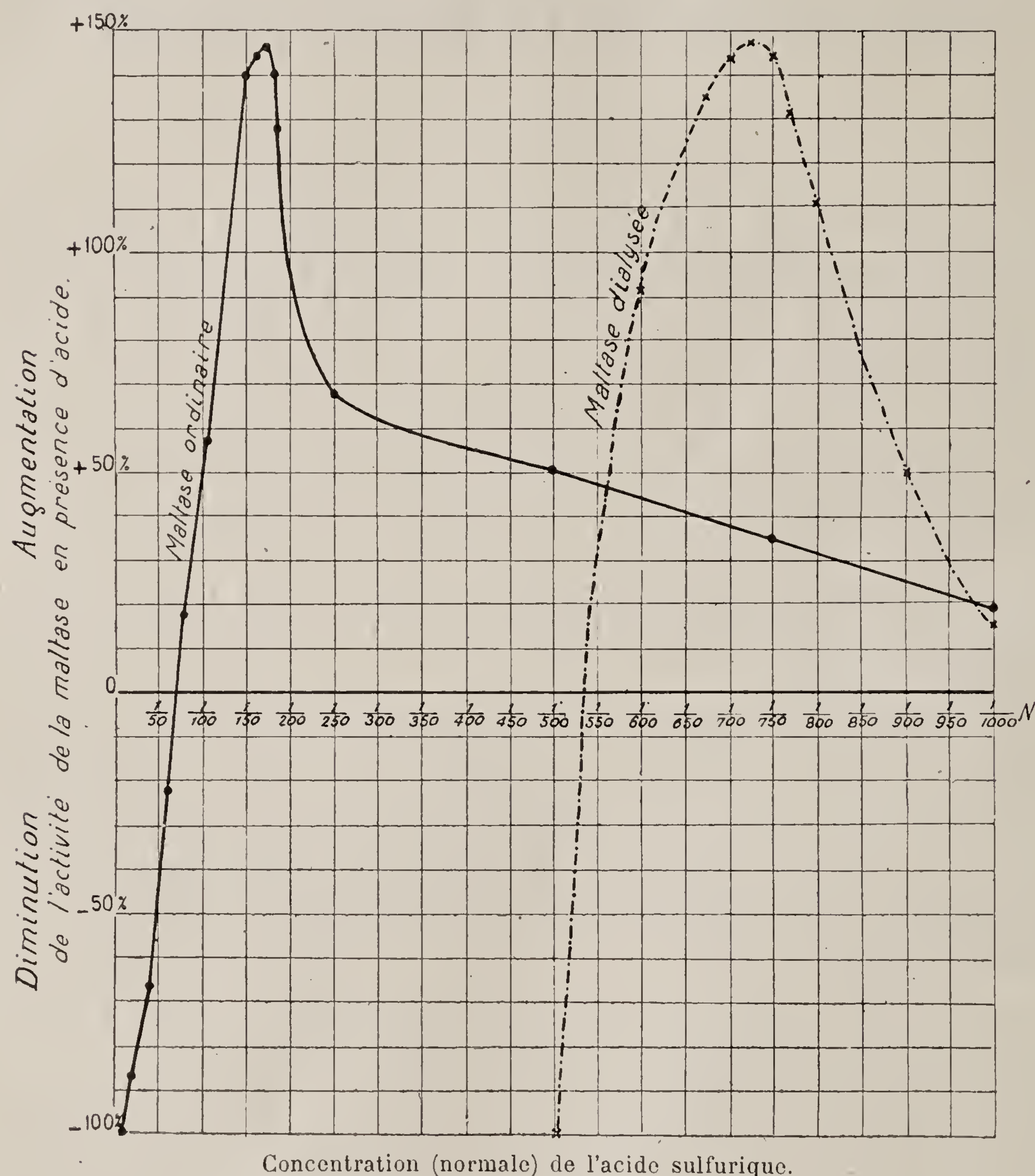
Il était surtout intéressant de voir si les différences établies par nous [3] pour certains acides entre leurs propriétés activantes pour la maltase et leurs propriétés physico-chimiques (hydrolyse des sucres, conductivité spécifique) persistent lorsqu'ils agissent sur la maltase dialysée ; en d'autres termes, si l'activité de la maltase dépend exclusivement des concentrations en ions H, ou bien si d'autres facteurs interviennent aussi.

La maltase et le maltose ont été les mêmes que dans nos travaux sur la dialyse de la maltase [4].

La dialyse était effectuée comme dans nos recherches précédentes; toutefois, au lieu du dispositif ordinaire, nous nous

sommes servi de notre dialyseur analytique [5] et nous avons dialysé pendant 72 heures. La solution de maltase dialysée était neutre vis-à-vis de l'héliantine; elle contenait 1,0 p. 100 des cendres; sa conductivité électrique était $K = 9,5 \times 10^{-6}$.

La marche des expériences était la suivante : d'un certain



Concentration (normale) de l'acide sulfurique.

Fig. — Influence de l'acide sulfurique sur l'action de la maltase ordinaire ou dialysée.

nombre de tubes à essai en verre d'Iena, préalablement nettoyés pendant 15 minutes à la vapeur d'eau, quelques-uns étaient remplis avec 2 cent. cubes d'eau pure ($K = 1,5$ à $2,0 \times 10^{-6}$), les autres avec le même volume d'acide à différentes concentrations. Ces tubes, ainsi que les solutions de maltase dialysée et fraîchement préparée et de maltose, ont été

placés dans l'étuve à + 37 degrés ± 0,5 degré centigrade et laissés pendant 30 minutes. Après ce temps, on mélangeait la solution sucrée avec chacune des solutions diastasiques et on versait dans chaque tube à essai 3 cent. cubes du mélange. On a expérimenté sans vérifier l'hydrolyse du sucre par la dose la plus forte d'acide [6], et sans antiseptique [7]. Après 3 h. 1/2, on a retiré les tubes de l'étuve et on a arrêté l'hydrolyse en ajoutant de la soude caustique jusqu'au virage rouge de la phtaléine du phénol. Les sucres ont été dosés par la méthode de G. Bertrand.

Les solutions d'acide ont été titrées en présence de phénolphtaléine. Chaque acide était étudié en deux ou trois séries afin de préciser la dose en présence de laquelle la maltase possède son optimum d'activité. Les acides employés étaient les produits « chimiquement purs » du commerce. Les concentrations finales de la maltase et du maltose étaient respectivement de 1 p. 100 et 2 p. 100.

Le tableau I montre la marche générale des expériences pour l'acide sulfurique.

Tableau I.

CONCENTRATION en ACIDE SULFURIQUE	MALTASE ORDINAIRE			MALTASE DIALYSÉE		
	Ire série.	IIe série.	IIIe série.	Ire série.	IIe série.	IIIe série.
1/10 N	— 100,0	....	....	— 100,0		
1/20 N	— 87,2	....	....	— 100,0		
1/40 N	— 66,4	— 68,0	....	— 100,0		
1/60 N	....	— 22,4				
1/80 N	....	+ 17,2				
1/100 N	+ 58,4	+ 58,2	....	— 100,0		
1/150 N	....	+ 140,2	+ 138,8			
1/160 N	....	....	+ 144,1			
1/170 N	....	....	**+ 146,0**			
1/180 N	....	....	+ 140,0			
1/190 N	....	....	+ 128,2			
1/250 N	+ 68,1	....	....	— 100,0	— 100,0	
1/500 N	+ 51,7	....	....	— 100,0	— 100,0	
1/600 N	....	....	....	....	+ 92,8	
1/700 N	....	....	....	....	+ 143,5	+ 147,3
1/725 N	....	....	....	....	....	**+ 147,5**
1/750 N	+ 36,4	....	....	+ 144,0	+ 143,7	+ 143,7
1/775 N	....	....	....	....	....	+ 131,2
1/800 N	....	....	....	....	+ 110,0	+ 108,6
1/900 N	....	....	....	....	+ 50,0	
1/1000 N	+ 18,4	....	....	+ 15,4	....	
1/2250 N	0	....	....	0	....	

Les chiffres indiqués représentent l'augmentation (+) ou la diminution (—) du pouvoir hydrolysant de la maltase en présence de l'acide ; par le zéro nous entendons les doses sans aucune action sur l'hydrolyse.

En construisant une courbe, on peut constater que l'activité de la maltase dialysée en présence d'acide sulfurique est beaucoup plus régulière que dans le cas de maltase non dialysée (fig. 1).

Comme on le voit, la solution non dialysée présente son activité maximale dans un milieu d'une acidité 1/170 N ; tandis que, pour la solution dialysée, l'activité maximale en présence d'une concentration de 1/725 N.

Il en est de même en général. L'optimum de l'activité est atteint, dans le cas de maltase dialysée, avec des doses d'acide inférieures à celles qui sont nécessaires à l'activation de la maltase non dialysée (1). C'est ce que montre le tableau II, qui donne

Tableau II.

ACIDES	CONCENTRATIONS OPTIMALES POUR LA MALTASE	
	Non dialysée.	Dialysée.
Chlorhydrique	1/160 N	1/600 N
Sulfurique	1/170 N	1/725 N
Phosphorique	1/25 N	1/125 N
Formique	1/60 N	1/125 N
Acétique	1/35 N	1/50 N
Monochloracétique	1/150 N	1/200 N
Dichloracétique	1/200 N	1/500 N
Trichloracétique	1/250 N	1/625 N
Propionique	1/20 N	1/25 N
Butyrique normal	1/10 N	1/60 N
Oxalique	1/150 N	1/650 N

les résultats obtenus avec les acides, présentant le maximum des différences entre leurs propriétés physico-chimiques et leurs influences sur l'activité de la maltase, et choisis parmi les 62 acides précédemment étudiés par nous [3].

En prenant l'acide chlorhydrique comme base des calculs et

(1) Étant donné que les solutions de maltase subissent une dilution pendant la dialyse, on a toujours opéré avec des solutions plus fortes.

en rangeant les autres acides suivant leur activité, nous verrons que, pour tous les acides étudiés, les différences entre leurs propriétés physico-chimiques et leur influence sur le pouvoir hydrolysant de la maltase dialysée sont les mêmes que pour la maltase non dialysée (voir le tableau III).

TABLEAU III.

ACIDES	POIDS moléculaire.	ACTIVITÉ DES ACIDES (HCl = 100) vis-à-vis de la maltase.		ACTIVITÉ des acides (HCl = 100) vis-à-vis du saccharose. [8]	CONDUCTIVITÉ spécifique des acides (HCl = 100.)
		Ordinaire.	Dialysée.		
Chlorhydrique	36.5	100 »	100 »	100 »	100 »
Sulfurique	98,0	106,2	120,8	53.6	65,1
Phosphorique	98,0	15,6	20,8	6,23	7,3
Formique	46,0	37,5	20,0	1,53	—
Acétique	60,0	21,8	5,8	0,40	1,4
Monochloracétique	94.5	93.7	33,3	4,84	4,9
Dichloracétique	129.0	125,0	83,3	27,1	25,3
Trichloracétique	163,5	156,2	104,2	75.4	62,3
Propionique	74,0	12,5	4,1	—	—
Butyrique	88,0	6,2	1,7	—	—
Oxalique	90,0	92,5	108,3	18,6	19,7

Si on calcule, suivant la formule

$$[H] = \sqrt{K} \times C$$

(K est la constante de dissociation et C représente la concentration moléculaire de l'acide en question), les concentrations en H. pour les doses optimales des acides étudiés, calculs rendus possibles grâce à l'élimination des différents sels, on constate que $P_H = \log [H.] = 3,6$ à $5,8$, suivant la nature de l'acide employé [9] (voir le tableau IV).

Tout dernièrement, Michaelis et Rona [10], en faisant varier les concentrations ioniques au moyen des acétates ou des phosphates, ont trouvé comme optimum d'activité de la maltase non dialysée une concentration en ions acides correspondant à $P_H = 6,1$ à $6,8$.

Le chiffre obtenu par ces auteurs est assez rapproché du nôtre pour l'acide acétique, mais diffère de ceux pour les autres acides.

Si nous comparons les résultats obtenus par de nombreux auteurs au sujet de l'influence des acides sur de multiples phénomènes biologiques, nous pouvons constater que, dans chaque cas, les acides se rangent d'après leur activité d'une façon toute spéciale; jamais aucun parallélisme ne pouvait être constaté entre le degré de dissociation électrolytique et l'activité catalytique. Donc il y a là un facteur inconnu qui intervient et qui trouble les résultats observés.

TABLEAU IV.

ACIDES	CONCENTRATIONS EN IONS H. POUR LA MALTASE		CONCENTRATIONS OPTIMALES POUR LA MALTASE	
	Non dialysée.	Dialysée.	Non dialysée.	Dialysée.
Formique	$2,5 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-4}$	1/60 N	1/125 N
Acétique	$1,2 \times 10^{-4}$	$8,4 \times 10^{-5}$	1/35 N	1/50 N
Monochloracétique	$2,6 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-4}$	1/150 N	1/200 N
Dichloracétique	$1,1 \times 10^{-3}$	$4,5 \times 10^{-4}$	1/200 N	1/500 N
Trichloracétique	$4,4 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-3}$	1/250 N	1/625 N
Propionique	$1,8 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-4}$	1/20 N	1/25 N
Butyrique	$3,8 \times 10^{-4}$	$3,8 \times 10^{-4}$	1/10 N	1/10 N
Oxalique	$2,2 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^{-4}$		

Quel est ce facteur?

Du côté purement physico-chimique, la théorie de la classification de l'activité catalytique des acides, suivant le degré de dissociation, a subi, ces temps derniers, des atteintes considérables.

Traube, dans ses nombreux travaux, suppose que ce n'est pas la constante de dissociation qui est la cause primaire de la force catalytique des acides, mais la force de liaison entre la molécule dissoute et la molécule dissolvante (Haftdruck); cette opinion est soutenue également par Fouard.

D'autre part, les travaux d'une grande importance de Goldschmidt, Acree, Snethlage, Taylor, Bredig et ses élèves, ont établi que, dans les réactions catalytiques par les acides, ce n'est pas la partie dissociée qui possède l'influence capitale et que la partie non dissociée joue un rôle très important; en plus cette partie non dissociée, dans le cas des acides forts,

peut avoir une force catalytique deux ou trois fois plus grande que la partie correspondante des ions H. libres.

Finalement, les chiffres obtenus par G. Bertrand et ses élèves [11] avec la sucrase montrent à l'évidence qu'on peut déceler une différence entre les acides, même dans les cas où les concentrations sont au-dessus de celles d'une dissociation électrolytique totale (par exemple M/12.000 ou M/13.000). G. Bertrand conclut donc que les anions interviennent aussi dans les réactions (1).

Quels sont donc les facteurs qui interviennent dans les phénomènes biologiques, provoqués par les acides? — les anions, la force de liaison entre les molécules dissolvante et dissoute, ou bien la nature des anions? — il est impossible de répondre actuellement.

Une chose est certaine, c'est que l'activité des acides dans les phénomènes biologiques ne pourrait être expliquée uniquement par le degré de leur dissociation électrolytique.

De l'ensemble de ces faits nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1° L'influence des acides sur l'action de la maltase ne s'explique pas exclusivement par la concentration en ions acides; la nature des acides mêmes est un facteur non négligeable. Ces faits, d'ailleurs, sont en conformité avec ceux observés sur les autres diastases : sucrase et peroxy-diastase, ainsi que sur les différents phénomènes biologiques.

2° Pour bien préciser le conditions d'activité de la maltase, il faut opérer avec des solutions dialysées.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Kopaczewski. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVII, 1913, p. 523.

[2] G. Bertrand et M. et Mme Rosenblatt. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVI, 1912, p. 321 et 932.

[3] Kopaczewski. — *Zeit. f. physiol. Chemie*, t. LXXX, 1912, p. 182.

[4] Kopaczewski. — *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLVI, 1913, p. 1853.

[5] Kopaczeroski. — *Comptes rendus Acad. des Sciences* 1913.

(1) Ce point de vue a été développé par nous dans un article spécial dans l'*Internationale Zeitschrift für physikalisch-chemische Biologie*, 1914.

[6] Kopaczewski. — *Bull. Soc. Chim.*, 4e série, t. II, 1912, p. 850.
[7] Kopaczewski. — *Biochem. Zeit.*, t. XLIV, 1912, p. 349.
[8] Ostwald. — *Journ. f. prakt. Chemie*, t. XXIX, 1884, p. 385.
Ostwald. — *Zeit. f. physik. Chem.*, t. III, 1889, p. 170 et suiv.
[9] Abderhalden. — *Handbuch d. bioch. Arbeitsmeth.*, t. III, p. 1339.
Sörensen. — *Biochem. Zeit.*, t. XXIII, 1910.
[10] Michaelis et Rona. — *Biochem. Zeit.*, t. LVII, 1913, p. 458.
[11] G. Bertrand et Mlle Rozenband. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIII, 1909, p. 314.
G. Bertrand et M. et Mme Rosenblatt. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVI, 1913, p. 321 et 932.

ERRATA

Mémoire de M. A. Laveran : *Les leishmanioses chez les animaux.*

Page 100, ligne 21, au lieu de : *parasites naturels des simulies*, lire : *parasites naturels des phlébotomes.*

Même page, lignes 30 et 31, au lieu de : *La fréquence de ces parasites chez les simulies et le fait que l'existence de ces mouches*, lire : *La fréquence de ces parasites chez les simulies et les phlébotomes et le fait que l'existence de ces insectes.*

Page 101, ligne 1, au lieu de : *qu'il pourrait exister une relation entre les Flagellés des simulies*, lire : *qu'il pourrait exister une relation entre les Flagellés des simulies ou des phlébotomes.*

Le Gérant : G. Masson.

Paris — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

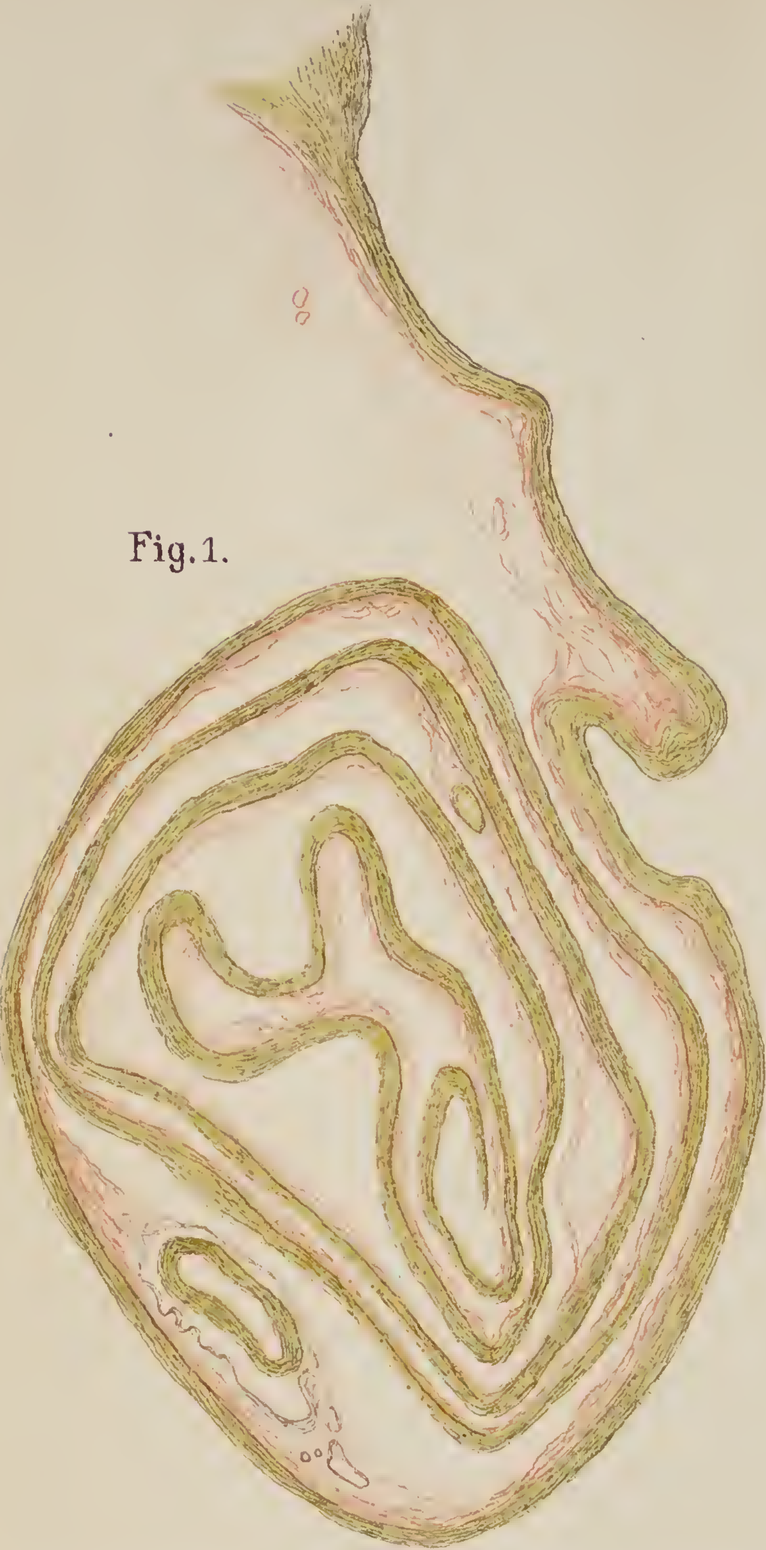


Fig. 1.



Fig. 2.

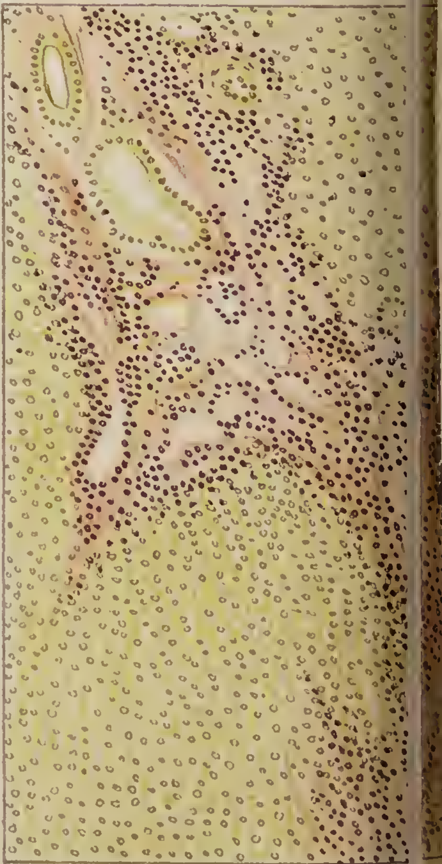
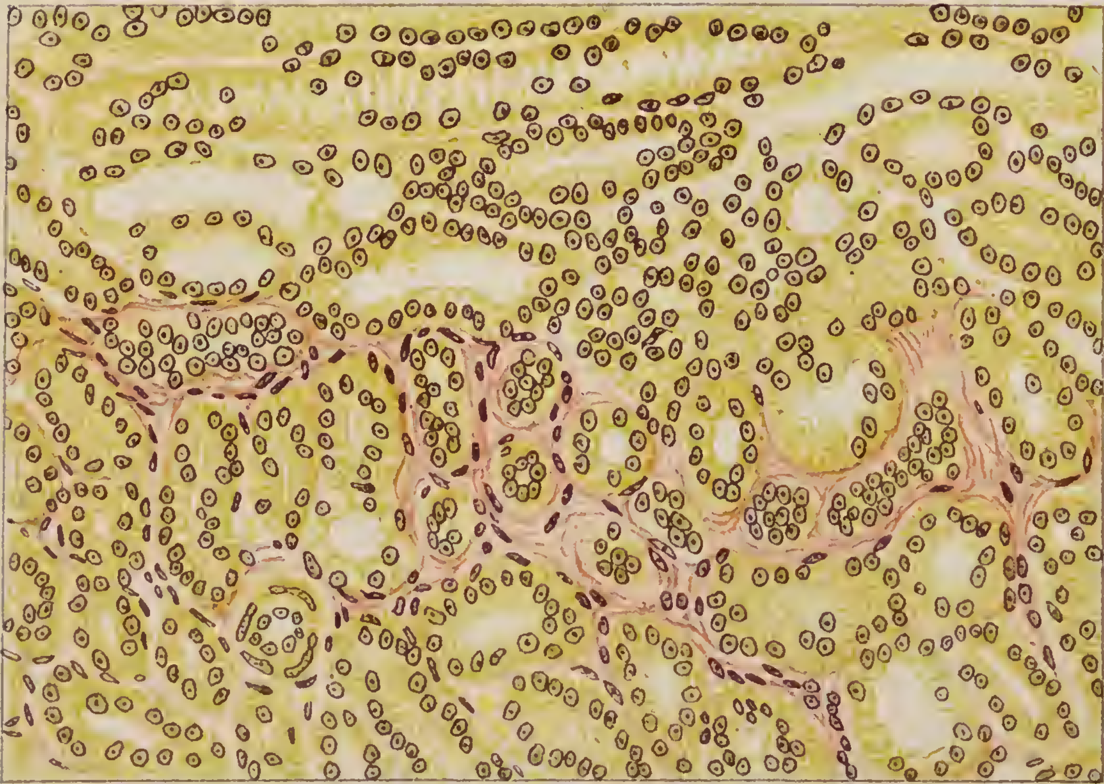


Fig. 5.



Ch. Constantin del. et lith.



Fig. 3.

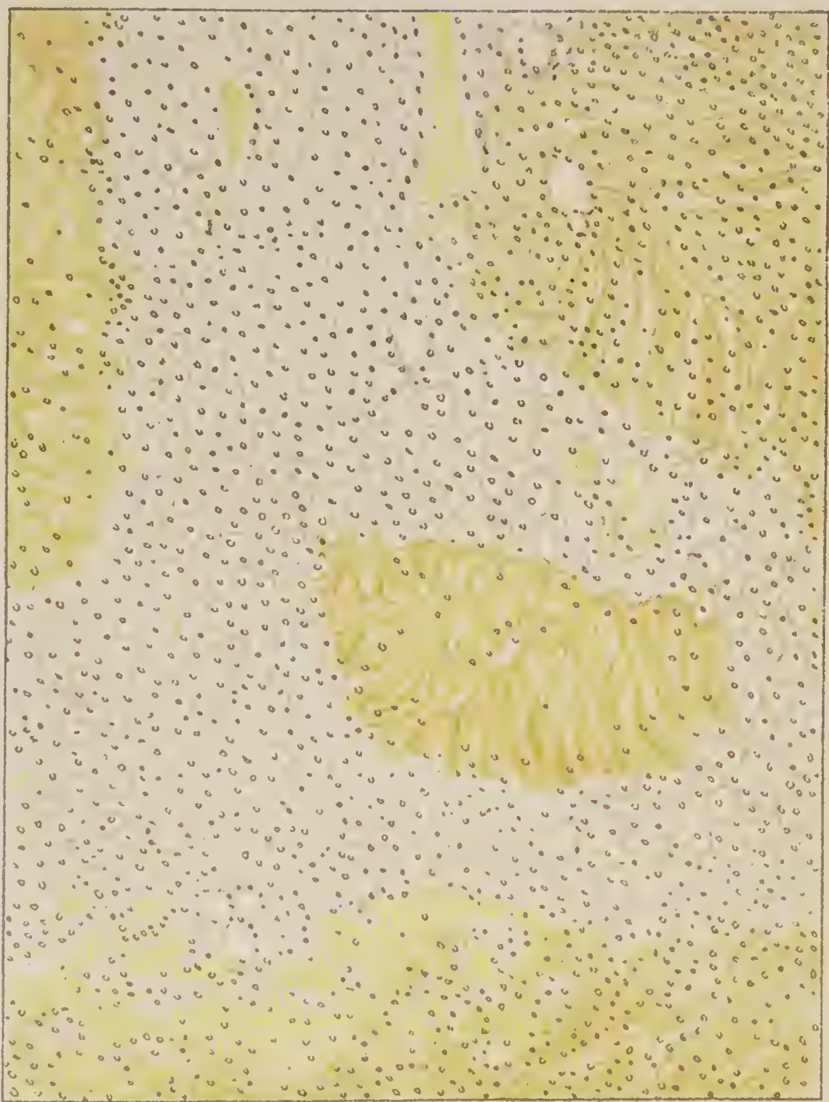


Fig. 4.

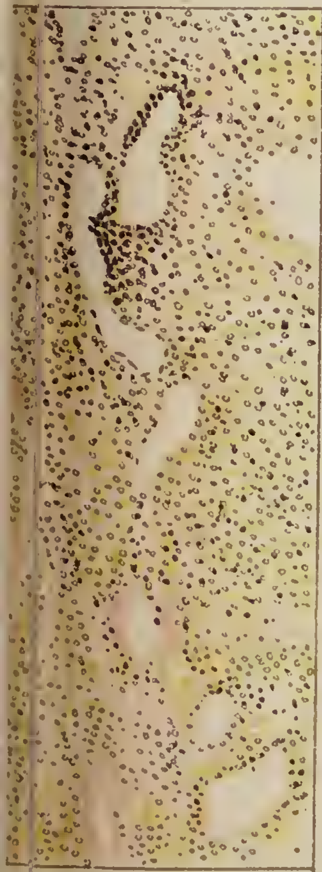
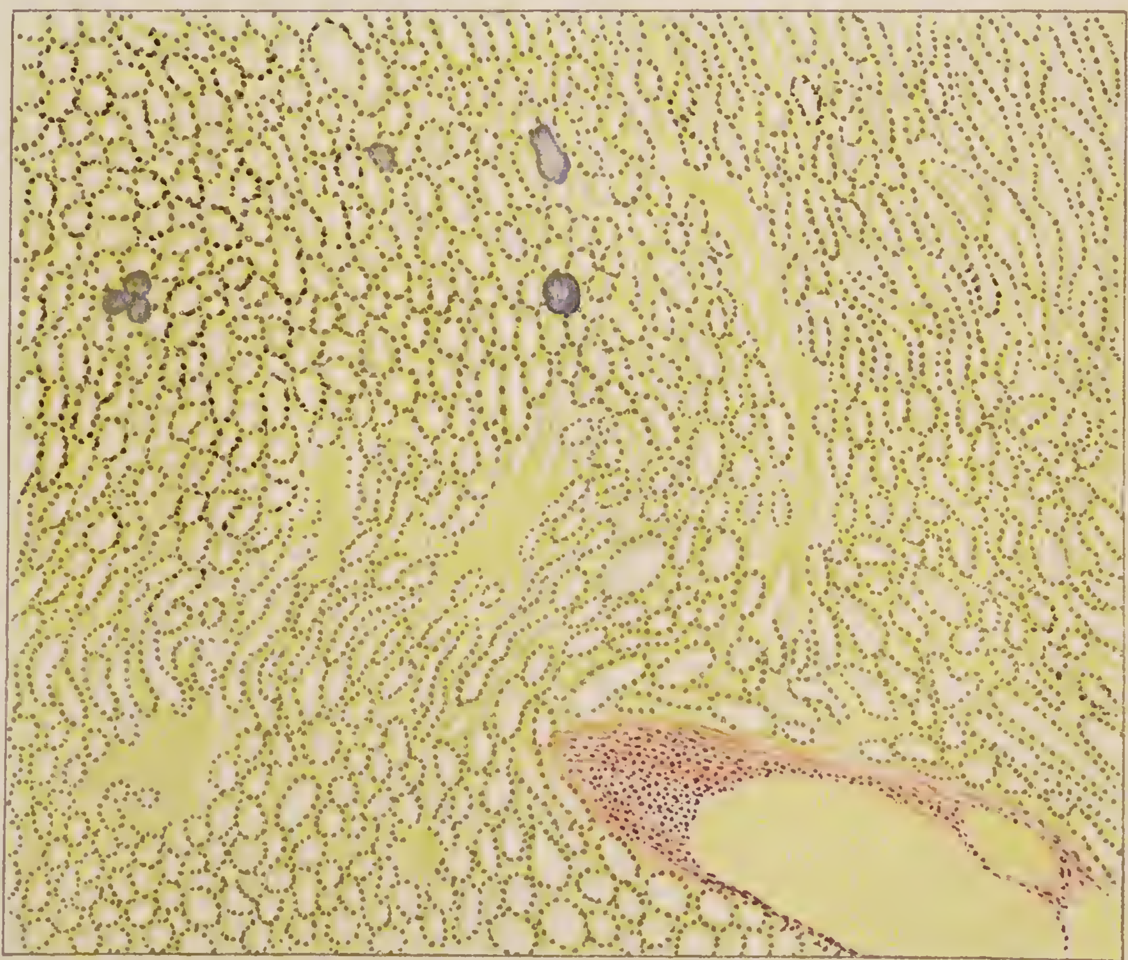


Fig. 7.



Imp. L. Lafontaine, Paris.

29e ANNÉE AVRIL 1915 N° 4

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDES SUR LE VIBRION SEPTIQUE ET LE « BACTERIUM CHAUVŒI »

par M. NICOLLE, E. CÉSARI et Mlle A. RAPHAEL

Nous avons été amenés, par des considérations d'ordre général, à entreprendre une série d'expériences sur le vibrion septique et le *bacterium Chauvœi*. Les premiers résultats obtenus nous ont conduits vers de nouvelles recherches très étendues et ainsi s'est développé progressivement le travail que l'on va lire.

Voici la liste des *échantillons utilisés dans nos études*.

V. septique.

(1). Échantillon isolé par nous du sang de vache putréfié, conformément à la tradition classique.
(2). Échantillon isolé par nous d'un cadavre de lapin altéré.
(3), (4). Échantillons isolés par nous de cadavres de cobayes altérés.

B. Chauvœi.

(1). Échantillon isolé par notre ami Jouan (tumeur porcine).
(2), (3). Échantillons Piettre (isolés par nous; tumeurs bovines).
(4), (5). Échantillons Vallée (Calvados et Hautes-Pyrénées), dus à l'obligeance de notre savant collègue.
(6). Échantillon Richart (isolé par nous; tumeur bovine).
(7). Vaccin Leclainche et Vallée (origine Vallée).

Ces germes ont été ensemencés en bouillon-Martin et conservés à la glacière (tubes très nombreux, afin d'espacer le

plus possible les repiquages, dont on connaît l'influence néfaste sur l'activité des bactéries). Pour les expériences, on utilisait des cultures-filles : bouillon-Martin, simple ou faiblement glucosé (0,2 p. 100), selon les circonstances.

Comme *animaux réactifs*, nous avons employé des *cobayes* (mâles, sauf dans certains cas spéciaux) de 500-600 grammes et des *lapins* de 2.000-2.500 grammes.

Nous envisagerons, tour à tour, les points suivants : *effets de la toxine soluble — caractères des hémotoxines — effets des germes vivants — immunité active — immunité passive — antihémotoxicité.*

EFFETS DE LA TOXINE SOLUBLE

Il s'agit de cultures en bouillon-Martin glucosé (0,2 p. 100), filtrées après 5-15 jours d'étuve. Les filtrats sont légèrement acides (tournesol) : leur efficacité ne change pas par neutralisation.

Aucune différence n'est apparue *entre le poison des v. septiques et celui des b. Chauvœi.* On prendra, comme types, les toxines les plus actives de chaque groupe, que nous avons injectées aux *cobayes* et aux *lapins*, *dans les veines* et *sous la peau.*

Expériences sur les cobayes.

Injections intraveineuses.

2 cent. cubes tuent en 5-10 minutes ; 1 cent. cube, en 1/2 à 2 heures généralement ; 1/2 cent. cube, en 6-12 heures. 10^{-1} cent. cube demeure inoffensif.

On observe les *mêmes formes anatomo-cliniques que pour la toxine staphylococcique* (ces *Annales*, mars 1914).

Injections sous-cutanées.

4 cent. cubes tuent la moitié des animaux (en 1-3 jours) ; 2 cent. cubes et même 1 cent. cube produisent une eschare humide ; 10^{-1} cent. cube engendre une eschare du type V ; 10^{-2} cent. cube, un léger œdème transitoire.

Mêmes lésions tégumentaires qu'avec le poison des staphylocoques. A l'*autopsie* des cas mortels : œdème hémorragique local (sous l'eschare), *sans bulles* gazeuses; épanchement rosé intra-abdominal ; congestion plus ou moins marquée des intestins : foie feuille morte (taches nécrotiques, *sans bulles*), reins décolorés (taches nécrotiques); poumons exsangues.

Expériences sur les lapins.

Injections intraveineuses.

Mêmes chiffres que pour les cobayes, mort en un temps variable (quelques minutes — 12 heures). *Les animaux succombent à l'arrêt respiratoire.*

Injections sous-cutanées.

Grandes *différences individuelles.* 4 cent. cubes d'un filtrat donné peuvent : tuer; déterminer l'eschare humide; produire seulement le type V; n'engendrer (cas exceptionnel) que l'œdème pur et simple. Derrière ces irrégularités, on discerne cependant nettement une résistance au poison plus grande que celle des cobayes.

Mêmes lésions tégumentaires qu'avec la toxine staphylococcique. A l'*autopsie* des cas mortels, mêmes altérations que chez les cobayes.

Le *chauffage à* 55 *degrés* (1/2 heure) diminue l'activité du poison. Ce fléchissement, assez peu appréciable lors des injections sous-cutanées, devient évident lors des injections intraveineuses (il faut forcer les doses pour tuer).

Le *chauffage à* 100 *degrés* (5 minutes) altère notablement la toxine. 4 cent. cubes demeurent inoffensifs par la voie vasculaire; par la voie hypodermique, ils ne produisent que le type V chez le cobaye et l'œdème fugace chez le lapin.

Notre collègue Jouan a constaté, jadis, que des cultures en bouillon-Martin glucosé, additionné d'1/5 de sérum de cheval, conservaient intégralement leur activité toxique après plus de trois mois d'étuve.

Le meilleur poison, obtenu par nous, n'offre point la puissance de celui que décrivent Grassberger et Schattenfroh, comme « solution normale ». Il convient de noter, toutefois, que nous avons filtré et pas seulement « clarifié » les cultures (le procédé Grassberger et Schattenfroh semble bien scabreux) et que nous nous servons d'animaux plus âgés que les leurs. Nous ne saurions admettre les deux affirmations suivantes des auteurs viennois : identité de la dose mortelle, sous la peau et dans les veines; constance d'une incubation de 60 minutes environ, lors des injections intraveineuses. Par contre, nous avons constaté avec eux (et Eisenberg) le fléchissement du poison à des températures relativement peu élevées.

CARACTÈRES DES HÉMOTOXINES

Les germes dont nous nous occupons peuvent secréter des hémotoxines — *lysines* et *agglutinines* — offrant habituellement leur maximum d'activité chez les filtrats des cultures de 5 jours, en bouillon-Martin glucosé. Ces « poisons partiels » sont détruits, aux environs de 55 degrés, après une demi-heure de chauffage.

Nous avons pris comme réactifs les *globules* rouges, lavés, *de cinq espèces animales* : cobaye, lapin, mouton, cheval, bœuf (émulsions en eau physiologique; titre : 5 p. 100). On traitait 1 cent. cube de suspension cellulaire par des quantités variables de filtrat : 1/2 cent. cube... 10^{-2} cent. cube. L'hémolyse se recherchait à 38 degrés, l'agglutination à 0 degré.

Hémolysines.

Fait dominant, les filtrats de nos divers échantillons, obtenus dans des conditions identiques et étudiés parallèlement, le même jour, sur la même série de globules, ont montré des *différences qualitatives considérables*. Le tableau ci-joint, où l'on s'est volontairement borné à mentionner le caractère, soit positif soit négatif de l'épreuve, sans aucune donnée numérique, révèle avec clarté ces différences.

Eisenberg avait classé, comme il suit, par sensibilité décroissante, les cinq espèces d'hématies en question : cobaye, lapin, cheval, bœuf, mouton. Une telle classification postule que les lysines ne varient que quantitativement, affirmation insoutenable désormais.

Il y a plus. Les résultats que nous mentionnons permettent de supposer que bien des hémolysines et même bien des

toxines « générales » pourraient offrir des différences qualitatives, selon la race qui les fournit, au sein d'espèces bactériennes parfaitement légitimes.

Inutile d'insister sur *l'impossibilité de distinguer les v. septiques et les b. Chauvœi, d'après les caractères de leurs hémolysines.*

ÉCHANTILLONS	HÉMATIES de cobaye.	HÉMATIES de lapin.	HÉMATIES de mouton.	HÉMATIES de cheval.	HÉMATIES de bœuf.
Vibrion septique sang	+	+	+	0	0
— lapin	+	+	+	+	+
— cobaye n° 1	+	+	0	+	+
— cobaye n° 2	+	0	0	+	+
B. Chauvœi Jouan	+	+	+	+	0
— Piettre n° 1	+	+	+	+	+
— Piettre n° 2	+	0	0	0	0
— Vallée-Calvados	+	+	0	0	0
— Vallée-Hautes-Pyrénées	0	+	+	0	+
— Richart	+	+	+	+	0
— Vallée (vaccin)	+	+	+	0	+

Quelques détails, maintenant. Tous les échantillons (sauf le *Chauvœi* Hautes-Pyrénées) dissolvent les *hématies de cobaye* (le plus souvent à 10^{-2} cent. cube, ailleurs à 10^{-1} ou au 1/2 cent. cube; l'hémolyse est rarement incomplète). — La plupart dissolvent les *hématies de lapin*, mais seulement au 1/2 cent. cube et d'ordinaire incomplètement. — La majorité dissolvent les *hématies de mouton*, mais au 1/2 cent. cube et incomplètement une fois sur deux — Les *hématies de cheval et de bœuf* sont dissoutes, par 6 échantillons, au 1/2 cent. cube (le plus souvent de façon incomplète pour les hématies de cheval, toujours complètement pour les hématies de bœuf).

A noter, seulement, deux types concordants : (1) +++++, réalisé par le septique lapin et le *Chauvœi* Piettre n° 1; (2) ++++ O, réalisé par les *Chauvœi* Jouan et Richart.

Hémoagglutinines.

Les globules de cobaye et de lapin se montrent seuls agglutinables. Les premiers, avec tous les échantillons (y compris

le *Chauvœi* Hautes-Pyrénées); les seconds, avec le septique lapin et les *Chauvœi* Jouan, Piettre (1 et 2) et Calvados.

L'agglutination est réalisée, d'ordinaire, à 10^{-2} cent. cube; ailleurs, on l'observe, généralement totale, à 10^{-1} ou au 1/2 cent. cube.

EFFETS DES GERMES VIVANTS

On prendra comme types les échantillons les plus pathogènes (*v. septiques ou b. Chauvœi, indiscernables ici encore*); quelques lignes seront consacrées, en terminant, aux spécimens moins actifs.

Nous avons injecté des cultures de vingt-quatre heures (37°) en bouillon Martin glucosé, tantôt telles quelles, tantôt lavées à l'eau physiologique par centrifugation (afin d'éliminer la toxine libre). On ramenait les cultures lavées au volume initial, pour assurer la comparabilité des expériences.

Les *cobayes* et *lapins* ont été inoculés *dans les veines*, *sous la peau* et *dans les muscles*.

Expériences sur les cobayes.

Injections intraveineuses.

Cultures totales. — Au-dessus de 10^{-1} cent. cube, mêmes effets qu'avec les filtrats (mort encore plus rapide, pour les doses qui ne tuent pas très vite). Avec 10^{-1} cent. cube, les sujets succombent en 12-36 heures (ou résistent, exceptionnellement); avec 10^{-2} cent. cube, on n'observe aucun trouble appréciable (même si l'on ajoute 10^{-1} cent. cube de toxine).

Cultures lavées. — 1 cent. cube tue en 12 heures, 10^{-1} cent. cube demeure inoffensif.

Les germes sont détruits bien plus facilement que sous la peau (*vide infra*), ainsi que l'ont déjà noté les auteurs.

Symptômes et lésions. — Nous distinguerons 2 *cas.*

Mort en 12 heures. — Aucune différence clinique avec les animaux qui ont reçu les filtrats. *Post mortem*, altérations plus marquées : congestion violente des viscères abdominaux; reins noirs, rate noire, intestins hémorragiques.

Mort en 1 jour-1 jour 1/2. — *Cliniquement.* Rien de spécial, d'habitude, pendant 12-24 heures. Puis : poil piqué ; ventre gros, tendu, sensible; coma progressif; mort par arrêt respiratoire. *A l'autopsie* : souvent œdème hémorragique (*avec bulles gazeuses*), partant de la plaie cervicale et s'étendant plus ou moins loin; congestion variable des intestins; foie feuille morte (taches nécrotiques, *avec bulles*); reins décolorés (taches nécrotiques); poumons exsangues.

Injections sous-cutanées.

Aucune différence, ici, *entre les cultures totales et les cultures lavées.* 1 cent. cube tue en 12 heures (ou moins); 10^{-1} à 10^{-2} cent. cube, en 12-36 heures ; 10^{-3} cent. cube, en 24-36 heures (dans la moitié des cas) ; 10^{-4} à 10^{-5} cent. cube, rarement (en 36 heures).

Tous les animaux qui résistent et auxquels on injecte localement, après 3-7 jours, 1-2 cent. cubes de toxine ou I goutte d'acide lactique, périssent en 12-36 heures. — *Tous les animaux* qui reçoivent, d'emblée, 10^{-5} cent. cube de culture + 1 cent. cube de toxine, meurent dans la nuit (avec 10^{-6} cent. cube et 1 cent. cube de toxine, résultats négatifs).

Symptômes et lésions. — Nous considérons encore 2 *types.*

Mort en 12 heures. — *Cliniquement.* Eschare humide, envahissant rapidement l'abdomen et reposant sur un œdème plat et crépitant. Après quelques heures : immobilité, stupeur; ventre gros, sensible et tendu. Puis, coma et mort par arrêt respiratoire. *A l'autopsie* : œdème hémorragique (*avec bulles*) sous l'eschare; épanchement rosé intra-abdominal; congestion plus ou moins hémorragique des intestins; foie feuille morte (taches nécrotiques, *avec bulles*); reins décolorés (taches nécrotiques); poumons exsangues. L'odeur butyrique, mentionnée dans les livres, ne nous a jamais beaucoup frappés; par contre, nous avons plusieurs fois rencontré la *rupture de l'estomac*, dont personne ne parle.

Mort en 1 jour-1 jour 1/2. — *Cliniquement.* Après 12 heures, lésions locales variables (empâtement minime, type V, eschare humide), d'habitude type V demeurant sec jusqu'à la mort. Les symptômes généraux éclatent souvent d'une façon tardive et suivent une marche très rapide, comme chez les animaux charbonneux (il est curieux de voir certains sujets, d'apparence normale et porteurs de lésions minimes, succomber ainsi, « pendant que l'on a le dos tourné »). *Post mortem*, altérations classiques.

[Inutile d'ajouter que le sang du cœur donne *toujours* des *cultures positives*, quel que soit le temps de survie.]

Injections intramusculaires.

La destruction des germes s'opère plus rapidement que sous la peau, comme le montre ce qui va suivre (*aucune différence*, ici encore, *entre les cultures totales et les cultures lavées*).

1 cent. cube et 10^{-1} cent. cube tuent en 12-24 heures; 10^{-2}, 10^{-3} et 10^{-4} cent. cube amènent rarement la mort; 10^{-3} cent. cube, jamais.

Les injections révélatrices ne sont qu'exceptionnellement efficaces chez les sujets qui ont reçu 10^{-4}-10^{-5} cent. cube de culture. Par contre, tous les animaux auxquels on administre, d'emblée, 10^{-5} cent. cube de culture + 1 cent. cube de toxine périssent en un jour.

Symptômes et lésions. — Mêmes phénomènes généraux et mêmes altérations *post mortem* que lors d'inoculation hypodermique. *Localement* : empâtement marqué, qui gagne plus ou moins les parties voisines (quand la mort n'est pas trop rapide, eschare tégumentaire pâle, luisante et cerclée de brun) — violente hypérémie des muscles, avec œdème rouge envahissant (bulles gazeuses).

Dans un cas, chez une femelle pleine, nous avons noté de la congestion hémorragique de l'utérus et du placenta; les *fœtus* (2 cent. environ) ont donné des *cultures positives*.

Expériences sur les lapins.

Injections intraveineuses.

Cultures totales. — Mêmes effets qu'avec les filtrats.

Cultures lavées. — 2 centimètres cubes tuent dans la nuit; 1 cent. cube, le plus souvent en 2 jours (réaction abdominale moindre que chez le cobaye).

Injections sous-cutanées.

Cultures lavées. — 2 centimètres cubes déterminent un empâtement transitoire (érythème inconstant des téguments).

Cultures totales. — 2 cent. cubes (ou 1 cent. cube + II gouttes

d'acide lactique) engendrent l'eschare humide, sans phénomènes généraux; 10^{-1} cent. cube, l'œdème fugace (érythème ou non).

[Les *animaux nouveau-nés* ne jouissent pas de l'état réfractaire ; ils meurent en un jour, quand on leur injecte 1/2 cent. cube de culture totale.]

Injections intramusculaires.

Contrairement à ce que nous avons noté chez le cobaye, elles sont ici *plus sévères que les injections sous-cutanées.* 1 cent. cube (parfois 10^{-1} cent. cube) de culture totale tue en 12-24 heures les sujets adultes et, *a fortiori*, les nouveau-nés (*tumeurs charbonneuses* types, noires au centre, saumonées alentour).

Fait curieux : chez plusieurs lapins, qui avaient supporté impunément 10^{-1}, 10^{-2} ou 10^{-3} cent. cube de culture totale, l'acide lactique, *loco læso*, n'a pas réveillé les germes après quelques jours, alors que, chez un animal qui avait reçu, sans réagir, 10^{-3} cent. cube, l'injection intraveineuse d'une solution faible de bicarbonate de soude (40 cent. cubes) fut bientôt suivie d'infection type.

Tels sont les résultats obtenus avec nos échantillons les plus pathogènes. Pour montrer la gamme d'activité décroissante des autres, rien ne vaut quelques chiffres, concernant l'injection sous-cutanée chez le cobaye.

Spécimens moyennement pathogènes. — 1 cent. cube tue en 12-24 heures; 10^{-1} cent. cube, en 12-36 heures (dans la moitié des cas); 10^{-2} cent. cube, jamais.

Spécimens faiblement pathogènes. — 1 cent. cube ne tue qu'en 1 jour 1/2-2 jours 1/2 — *ou même* : 2 cent. cubes tuent en 1-6 jours 1/2 habituellement, mais ne déterminent parfois qu'une escharification des téguments (énorme, il est vrai).

Spécimen quasi-inactif (*vaccin Vallée*). — 3 cent. cubes occasionnent une simple nécrose locale, d'étendue souvent modérée.

Ajoutons que la toxicité des filtrats marche toujours de pair avec la faculté pathogène.

Tout ce que nous avons observé confirme donc l'opinion classique, c'est-à-dire la subordination de ce pouvoir infectant au pouvoir toxigène.

On s'explique ainsi : l'innocuité de 10^{-1} cent. cube de culture lavée dans les veines du cobaye (alors que 10^{-1} cent. cube de culture totale amène la

mort); l'innocuité de 2 cent. cubes de culture lavée sous la peau du lapin (alors que 2 cent. cubes de culture totale engendre une eschare humide); la nocuité constante de 10^{-5} cent. cube de culture + 1 cent. cube de toxine, sous la peau ou dans les muscles de cobaye; etc.....

Les microbes dont il est question ici ne se multiplient (infection d'emblée — réveil) que dans les tissus naturellement nécrosés par leur poison, artificiellement nécrosés par divers moyens (acide lactique, entre autres). Chez le cobaye, le muscle résiste mieux à la mortification que les téguments; chez le lapin, c'est l'inverse; d'où les apparences « croisées », que révèle l'expérimentation.

La disparition des germes sera d'autant plus rapide, selon nous, que cette nécrose préalable (soit locale, soit viscérale) s'opérera plus difficilement; d'où les gammes (vitesse décroissante de destruction) : veine, muscle, hypoderme, chez le cobaye — hypoderme, veine, muscle, chez le lapin.

IMMUNITÉ ACTIVE

Si le pouvoir infectant est uniquement fonction du pouvoir toxigène, l'immunité antitoxique doit entraîner, *ipso facto*, l'impossibilité du développement des germes chez l'animal. — Nous allons le montrer sans peine.

Si, jusqu'à présent, nous n'avons pu trouver un seul caractère différenciel entre les v. septiques et les *b. Chauvœi*, il semble bien probable que nous n'en rencontrerons pas davantage sur le terrain de la résistance acquise. — L'expérience va transformer cette probabilité en certitude.

Pour rendre les sujets (*cobayes*) réfractaires au poison, nous leur avons injecté, plusieurs fois, sous la peau, 2 cent. cubes du filtrat de l'échantillon Jouan (*b. Chauvœi*). Chaque nouvelle injection n'était faite qu'après cicatrisation totale de l'ulcus résultant de l'eschare antécédente. Les choses se sont passées sans la moindre difficulté. 3-4 séances (assez souvent 2, rarement 5) ont suffi pour rendre les téguments insensibles à la « toxine-Jouan » et à celle des autres échantillons (v. septiques ou *b. Chauvœi*). Les divers poisons actifs, introduits dans les veines des vaccinés (dose mortelle en quelques minutes), ne déterminaient aucun trouble appréciable, soit immédiat, soit tardif.

Les sujets auxquels nous avions conféré une telle immunité antitoxique résistaient *schématiquement* aux injections sous-cutanées de v. septiques et de *b. Chauvœi*, comme le démontre le tableau ci-joint.

[2 cobayes vaccinés et deux témoins recevaient, parallèlement, la quantité de culture (bouillon Martin, 24 heures d'étuve) indiquée sur ce tableau.]

ÉCHANTILLONS	DOSE injectée.	RÉSULTATS OBTENUS CHEZ : les 2 cobayes vaccinés.	les 2 témoins.
Vibrion septique sang. . .	10^{-1} c.c.	Réaction nulle.	Mort en 12 heures.
— lapin	10^{-1} c.c.	—	Mort en 12 et 36 heures.
B. Chauvœi Jouan	1/2 c.c.	—	Mort en 8 et 12 heures.
— Piettre n° 1.	1/2 c.c.	—	Mort en 12 heures et 2 jours.
— Vallée-Calvados . . .	1 c.c.	—	Mort en 1 jour 1/2 et 2 jours 1/2.
— Vallée-Htes-Pyrénées.	2 c.c.	—	Mort en 6 jours 1/2 et eschare énorme.
— Richart.	10^{-1} c.c.	—	Mort en 12 et 24 heures.

IMMUNITÉ PASSIVE

Le sérum des cobayes, vaccinés avec la « toxine Jouan », s'est montré capable de neutraliser les poisons des divers échantillons et d'empêcher l'infection par ces mêmes germes.

Action antitoxique.

Préventivement, 3 cent. cubes de sérum, introduits la veille dans les muscles du cobaye, rendent inoffensives et l'injection sous-cutanée et l'injection intraveineuse (dose qui tue « sur la table »).

Par mélange (1/2 heure de contact — température ordinaire), 1 cent. cube neutralise tous les effets des divers poisons.

[Inutile de dire que le sérum normal de cobaye n'offre aucun pouvoir antitoxique.]

Action antiinfectieuse.

Absolument *schématique*, ici encore, ainsi qu'en témoigne le tableau que l'on va lire.

[1 cent. cube était mélangé à 1/2 cent. cube de culture (bouillon Martin, 24 heures d'étuve); à 2 cent. cubes, pour l'échantillon Hautes-Pyrénées. Après une demi-heure de contact (température ordinaire), on injectait le tout sous la peau d'un cobaye. Des témoins, avec sérum normal de cobaye et sans sérum, étaient faits parallèlement.]

ÉCHANTILLONS	DOSE injectée.	RÉSULTATS OBTENUS CHEZ :		
		le cobaye antisérum.	le cobaye sérum normal.	le cobaye témoin.
Vibrion septique sang.	1/2 c. c.	Réact. nulle	Mort en 12 h.	Mort en 12 h.
— lapin	—	—	—	—
— cobaye n° 1	—	—	—	—
— cobaye n° 2	—	—	—	—
B. Chauvœi Jouan . . .	—	—	—	—
— Piettre n° 1	—	—	Mort en 36 h.	Mort en 36 h.
— Piettre n° 2	—	—	Mort en 12 h.	Mort en 12 h.
— Vallée-Calvados . .	—	—	Mort en 48 h.	Mort en 60 h.
— Vallée-H.-Pyrénées.	2 c.c.	—	—	Mort en 24 h.
— Richart.	1/2 c. c.	—	Mort en 12 h.	Mort en 12 h.

Nous avons traité quelques cobayes par les cultures totales de vaccin Leclainche et Vallée (4 injections sous-cutanées de 3 cent. cubes). Ces animaux ont parfaitement supporté l'inoculation hypodermique du v. septique lapin. Leur sérum neutralisait sans peine ce v. septique lapin et les *b. Chauvœi* Calvados, Hautes-Pyrénées et Richart. Il nous a paru inutile de multiplier de telles expériences, aussi en sommes-nous restés là.

ANTIHÉMOTOXICITÉ

Le sérum des cobayes, vaccinés avec les « filtrats Jouan », neutralise *tous les effets hémotoxiques* des divers échantillons, mentionnés plus haut (1/4 cent. cube de sérum + 1/2 cent.

cube de filtrat). Le sérum normal de cobaye n'a manifesté que rarement une faible activité.

Nos recherches, entreprises, avons-nous dit, pour élucider certaines questions d'ordre général (dont il sera parlé ailleurs), se trouvent confirmer et « illustrer » deux idées nettement formulées jadis par M. le Dr Roux : identité des v. septiques et des *b. Chauvœi* — subordination de leur pouvoir infectant à leur fonction toxigène.

SUR L'ACTION FAVORABLE EXERCÉE PAR LE MANGANÈSE SUR LA FERMENTATION ACÉTIQUE

par Gabriel BERTRAND et Robert SAZERAC.

L'importance physiologique du manganèse apparaît chaque jour plus évidente : non seulement, il est démontré que ce métal fait partie de la composition chimique élémentaire des cellules vivantes, aussi bien chez les animaux que chez les végétaux (1), mais on connaît déjà un des rôles qu'il est susceptible de remplir, celui d'intermédiaire entre l'oxygène libre et la matière organique dans les phénomènes conditionnés par la laccase (2). C'est même en s'appuyant sur ces notions fondamentales que l'emploi du manganèse, premier type des engrais dits *catalytiques*, a pu être introduit dans la pratique agricole : de minimes quantités de sels solubles de manganèse, ajoutées à un sol trop pauvre en cet élément, peuvent augmenter les récoltes dans des proportions parfois considérables (3).

Il n'y a pas que les plantes supérieures à profiter de la présence du manganèse contenu dans le milieu de culture : il en est de même des moisissures, comme l'ont montré, notamment, les recherches publiées par l'un de nous, seul ou en collaboration avec Javillier (4). Kayser, d'autre part, a réussi à modifier avantageusement la proportion d'alcool produite par la levure aux dépens du sucre (5). Nous venons de constater qu'une

(1) Gabriel Bertrand et Medigreceanu, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVI, p. 1013 (1912) et t. XXVII, p. 1 et p. 282 (1913).

(2) Gabriel Bertrand, *Bull. de la Soc. chim.*, 3e série, t. XVII, p. 619 et p. 753 (1897).

(3) Gabriel Bertrand, *Sur le rôle des infiniment petits chimiques en Agriculture* (Conférence au VIIIe Congrès de Chimie appliquée, New-York, 1912) reproduite dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, 1912 et dans la *Revue scientifique*, 1913.

(4) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVI, p. 241, 515 et 767 (1912).

(5) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CXLIV, 1907, p. 574.

Bactériacée, le *mycoderma aceti* de Pasteur (aujourd'hui *bacterium aceti* Hansen), oxydait beaucoup plus rapidement l'alcool pour le transformer en acide acétique dans un milieu additionné d'une petite quantité de manganèse que dans le même milieu non additionné et naturellement très pauvre en ce métal.

Le milieu qui nous a servi a été préparé en faisant bouillir de la levure haute de brasserie, préalablement débarrassée par un lavage rapide à l'eau glacée des substances solubles qui l'imprégnaient, avec 5 à 10 fois son poids d'eau ordinaire. La décoction, séparée de la levure et à peu près refroidie, a été additionnée d'un peu de blanc d'œuf, acidifiée très légèrement par l'acide acétique, portée de nouveau à l'ébullition pour coaguler l'albumine et filtrée au papier. Suivant les circonstances de sa préparation : durée du lavage, rapport des poids de levure et d'eau, degré d'acidification, etc., le liquide obtenu renferme plus ou moins de matières dissoutes et de manganèse, comme on le verra dans les deux séries d'expériences que nous rapportons ici.

Le milieu nutritif parfaitement limpide a été réparti, par portions de 50 cent. cubes, dans des fioles coniques d'un quart de litre et additionné, suivant les fioles, d'une proportion plus ou moins grande de sulfate de manganèse pur. Les fioles ont ensuite été bouchées avec un tampon d'ouate et un capuchon de papier à filtre, stérilisées 15 minutes à + 110 degrés et refroidies. On a versé dans chacune 2,5 c. c. d'alcool à 95 degrés, puis on a ensemencé, aussi régulièrement que possible, avec une culture très active de *mycoderma aceti* et placé dans une chambre thermostat, à la température de + 28 degrés. Enfin, de temps en temps, on a dosé, en opérant chaque fois sur le contenu total d'une fiole, l'acide acétique formé, par titrage à la soude normale, en présence de phtaléine de phénol comme indicateur.

Nous donnons les résultats des deux séries d'expériences les plus caractéristiques que nous avons effectuées.

Première série. — Le milieu nutritif, préparé de façon à contenir 5 grammes d'extrait sec par litre, ne contenait que des traces de manganèse, voisines de 2,5 millièmes de milligramme

pour les 50 cent. cubes, placés dans chaque fiole (1). Nous avons trouvé :

PROPORTIONS de sulfate de Mn ajoutées.	QUANTITÉS D'ACIDE ACÉTIQUE FORMÉES APRÈS :				
	2 jours.	3 jours.	5 jours.	6 jours.	7 jours.
0 (témoins)	0 gr. 210	0 gr. 378	1 gr. 512	1 gr. 986	2 gr. 166
1/1.000.000.	0 gr. 216	0 gr. 306	1 gr. 500	1 gr. 944	2 gr. 100
1/500.000	0 gr. 222	0 gr. 390	1 gr. 506	1 gr. 998	2 gr. 238
1/100.000	0 gr. 222	0 gr. 396	1 gr. 704	2 gr. 106	2 gr. 208
1/50.000	0 gr. 240	0 gr. 420	1 gr. 920	2 gr. 052	2 gr. 232
1/10.000	0 gr. 312	0 gr. 552	2 gr. 166	2 gr. 322	2 gr. 370
1/5.000.	0 gr. 312	0 gr. 540	2 gr. 004	2 gr. 226	2 gr. 304
1/1.000.	0 gr. 360	0 gr. 438	1 gr. 560	1 gr. 818	1 gr. 872

Deuxième série. — Dans les expériences de cette série, le milieu nutritif, beaucoup plus riche en produits solubles et surtout en manganèse, renfermait 7,5 gr. d'extrait par litre et une proportion de manganèse équivalant à 0,05 milligr. par fiole. En outre, l'action du microbe a été prolongée davantage que dans la première série. Voici les résultats obtenus :

PROPORTIONS de sulfate de Mn ajoutées.	QUANTITÉS D'ACIDE ACÉTIQUE TROUVÉES APRÈS :				
	3 jours.	4 jours.	5 jours.	8 jours.	10 jours.
0 (témoins)	0 gr. 660	1 gr. 266	1 gr. 998	0 gr. 786	0 gr. 546
1/100.000.	1 gr. 170	2 gr. 010	2 gr. 166	1 gr. 092	0 gr. 618
1/10.000	0 gr. 900	1 gr. 752	2 gr. 232	1 gr. 026	0 gr. 540
1/5.000.	0 gr. 960	1 gr. 806	2 gr. 046	0 gr. 978	0 gr. 684
1/1.000.	1 gr. 080	1 gr. 872	2 gr. 118	1 gr. 230	0 gr. 738
1/500.	0 gr. 330	1 gr. 710	2 gr. 112	1 gr. 392	0 gr. 072
1/250.	0 gr. 132	0 gr. 900	1 gr. 230	0 gr. 810	0 gr. 504

Comme on le voit par ces résultats, qui concordent, d'ailleurs, au moins dans leur allure générale, avec les autres que nous

(1) Le métal a été dosé suivant la méthode décrite dans le *Bull. de la Soc. Chim.*, 4e série, t. IX (1911), p. 361.

avons obtenus, la vitesse de transformation de l'alcool en acide acétique par la bactérie est fortement accélérée par l'addition d'une certaine proportion de manganèse : l'accélération croît d'abord avec la proportion de métal, passe par un maximum, puis décroît. Avec la race de ferment dont nous nous sommes servis et dans le milieu le plus pauvre, c'est en présence de 1/10.000 environ de sulfate de manganèse cristallisé, c'est-à-dire de 1/40.000 environ de métal, que la vitesse d'oxydation a été la plus grande (1).

Ces résultats portent à supposer que le rôle oxydasique du manganèse, déjà établi chez les plantes supérieures, existe aussi chez les Bactériacées, c'est-à-dire chez un groupe de plantes dont les échanges nutritifs se rapprochent parfois singulièrement de ceux des animaux.

(1) Au moment où nous avons publié un résumé de ce travail (*Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLVII, 1913, p. 149) nous avons indiqué que Rothenbach et Hoffmann avaient essayé, sans succès (d'après un extrait donné par eux dans *Centralb. f. Bakt.*, 2e partie, t. XIX, 1907, p. 586), d'augmenter l'action oxydante de *bacterium ascendens* par addition de sulfate de fer ou de manganèse et nous avons émis la supposition que ces auteurs avaient probablement opéré dans des conditions ne permettant pas d'obtenir les résultats très nets que nous rapportons ici. Nous avons pu nous procurer depuis le travail original (*Die deutsche Essigindustrie*, t. II, 1907, p. 125) et nous avons vérifié que notre supposition était exacte : entre autres conditions désavantageuses, la dose de sulfate de manganèse ajoutée était trop forte.

SUR LE SÉRODIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE

par E. DEBAINS et F. JUPILLE.

(Laboratoires de M. Metchnikoff et de l'Hôpital civil de Versailles.)

Au cours des maladies infectieuses les organismes infectés réagissent par la production de sensibilisatrices spécifiques dont l'existence dans le sang peut être révélée par la réaction de Bordet-Gengou; alors que la présence des agglutinines est variable, celle des sensibilisatrices est constante. En est-il de même dans la tuberculose, si variée dans ses manifestations et son évolution? Les auteurs qui se sont occupés de cette question ont abouti aux résultats les plus contradictoires; en 1909, MM. Bezançon et de Serbonnes, résumant leurs propres recherches et celles de leurs devanciers, s'expriment ainsi : « La réaction de fixation dans la tuberculose pulmonaire ne donne aucun renseignement au point de vue clinique, tant au point de vue du diagnostic que du pronostic...; ainsi donc, malgré sa spécificité, la réaction de fixation dans la tuberculose ne présente, à notre avis, qu'un intérêt clinique nul. »

Tout récemment encore l'opinion dominante était que l'apparition d'une sensibilisatrice dans le sang des tuberculeux est inconstante, passagère, soumise à l'influence de causes banales, par conséquent inutilisable en vue d'un diagnostic. Nous allons voir que cette opinion est erronée; en réalité, à part quelques exceptions que nous signalerons, le sang des malades renferme d'une façon constante un anticorps spécifique dans toutes les formes et à tous les stades de la tuberculose.

Les cultures du bacille de Koch en milieu peptoné-glycériné, les extraits obtenus par traitement des corps bacillaires, ne contiennent pas d'antigène capable de fixer régulièrement l'alexine en présence des sérums tuberculeux.

MM. Calmette et Massol ont réalisé un important progrès dans leur étude sur les sérums inhibants et les antigènes tuberculeux; par macération de corps bacillaires dans l'eau peptonée

ils ont obtenu un extrait qui se comporte comme un antigène très sensible ; en effet, sur 134 sérums d'hommes tuberculeux examinés par la méthode de Bordet-Gengou, il a été obtenu 92,5 p. 100 de réactions positives.

En cultivant le bacille tuberculeux dans le « bouillon à l'œuf », milieu dont il est l'auteur, M. A. Besredka a obtenu une culture abondante, homogène, se développant en profondeur, et dans laquelle s'élabore une tuberculine douée de propriétés remarquables, capable de fixer énergiquement l'alexine en présence des sérums tuberculeux, alors que la fixation est nulle avec le sérum des sujets sains ou atteints d'affections diverses. En comparant entre eux d'autres antigènes préparés par des méthodes variées, nous avons constaté que les uns possédaient une action très inconstante et que d'autres avaient le grave inconvénient d'être antihémolytiques en présence des sérums normaux, alors que, par eux-mêmes, ils ne gênaient nullement le fonctionnement d'un système hémolytique.

L'action des sérums normaux sur les propriétés favorisantes ou empêchantes des antigènes vis-à-vis de l'hémolyse doit être soigneusement étudiée.

L'importance des résultats obtenus par M. Besredka dans ses travaux sur la tuberculine à l'œuf nous a engagés à entreprendre une étude méthodique du sérum de l'homme tuberculeux. Nous nous sommes proposé de rechercher si la réaction de fixation est positive à tous les stades de la tuberculose pulmonaire, si elle existe dans les autres formes de tuberculose : tuberculose osseuse, ganglionnaire, articulaire, pleurale, péritonéale, génitale, urinaire, cutanée, méningée, etc.

Avant d'exposer les résultats obtenus, nous devons indiquer la technique que nous avons adoptée après de nombreux essais.

Technique de la réaction.

Lorsqu'on examine le sang de sujets sains, ou supposés tels, on s'aperçoit que nombre de sérums possèdent un léger pouvoir fixateur vis-à-vis de l'alexine en présence de la tuberculine de Besredka, propriété qui paraît coïncider avec une cutiréaction positive chez un sujet normal, ne présentant cliniquement aucune lésion suspecte, ou aucune altération d'un état général excellent.

Afin d'éviter toute erreur dans l'interprétation des résultats, nous prenons une dose fixe d'antigène et faisons varier la quantité d'alexine ; l'intensité de la réaction s'apprécie en déterminant les doses croissantes d'alexine diluée et titrée que peut fixer le sérum étudié en présence de l'antigène.

Le rôle de l'alexine étant capital, il importe d'en étudier l'activité et de la titrer rigoureusement. L'alexine du cobaye est très variable d'un animal à l'autre et son activité est soumise à diverses influences dont les principales sont : le froid, la digestion, l'état de grossesse...; elle est très instable pendant les premiers moments qui suivent la saignée. Il est donc nécessaire de se placer toujours dans les mêmes conditions; on choisira de préférence un cobaye mâle, de poids moyen, à jeun depuis quelques heures; l'alexine sera utilisée deux heures après la saignée et diluée seulement au moment de l'emploi.

L'activité de l'alexine est mesurée par une expérience préliminaire, en présence de deux sérums normaux, en suivant pour chaque sérum la marche indiquée dans le tableau suivant :

	1	2	3	4	5	6
	—	—	—	—	—	—
Sérum normal	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Alexine à 1/30.	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
Eau physiologique . .	1,1	1 »	0,9	0,8	0,7	0,6

Laisser une heure à l'étuve et ajouter dans chaque tube: Ambocepteur titré 0,1 c. c., globules de sang lavés à 20 p. 100 0,1 c.c. Remettre à l'étuve une demi-heure; laisser vingt minutes à la température du laboratoire et faire la lecture (1).

Le plus souvent, l'hémolyse est obtenue avec la dose de 0,3 ou 0,4; si l'activité de l'alexine est plus faible, on emploiera une dilution moins forte 1/25, 1/20, 1/15; mais il ne faut pas dépasser la concentration de 1/15, car la lecture des résultats manquerait de netteté; lorsque l'activité du sérum de cobaye est insuffisante, il est préférable de se servir d'une autre alexine.

(1) Le titre de l'ambocepteur doit être tel que 0,1 c. c. hémolyse en 10 minutes 0,1 c.c. d'une émulsion de globules rouges lavés à 20 p. 100, en présence de 0,1 c.c. d'une alexine active diluée au 1/30.

La réaction de fixation s'effectue d'après le mode opératoire suivant :

	1	2	3	4	5
	—	—	—	—	—
Sérum inactivé à 56 degrés .	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Antigène titré	0 »	0,3	0,3	0,3	0,3
Alexine diluée.	0,5	0,4	0,5	0,6	0,7
Eau physiologique.	0,7	0,5	0,4	023	0,2

Laisser une demi-heure à la température du laboratoire, puis une heure à l'étuve.

Ajouter dans tous les tubes 0,1 c.c. d'ambocepteur et 0,1 c.c. de globules lavés à 20 p. 100.

Remettre à l'étuve une demi-heure; laisser les tubes vingt minutes à la température du laboratoire et faire la lecture. Les résultats, dont la lecture est d'une extrême netteté, sont ainsi caractérisés: *positif*, *négatif*, *partiellement positif*. Les sérums sont inactivés par un chauffage de une demi-heure à 56 degrés.

Le tube qui ne contient pas d'antigène est un témoin destiné à montrer que le sérum étudié n'est pas antihémolytique par lui-même (1).

Il est indispensable d'opérer en présence de sérums normaux (deux au moins) qui sont les véritables témoins de la bonne marche de la réaction et de l'activité de l'alexine.

L'antigène possède un pouvoir antihémolytique assez marqué, mais qui disparaît si on l'additionne d'une matière albuminoïde, même en faible quantité; sérum normal ou ovalbumine; l'antigène doit donc être titré en présence d'un sérum normal.

Les sérums à étudier et les sérums témoins doivent être « frais », c'est-à-dire utilisés dans les trois jours qui suivent la saignée; après quatre ou cinq jours les sérums, même normaux et stériles, deviennent antialexiques.

En étudiant un très grand nombre de sérums, nous avons constaté que ceux qui donnent une réaction de Wassermann

(1) On doit obtenir une hémolyse limite dans le tube (2); le léger pouvoir fixateur présenté par certains sérums normaux et que nous avons signalé plus haut se manifeste par un arrêt plus ou moins marqué de l'hémolyse dans le même tube.

très positive fixent l'alexine en présence de la tuberculine de Besredka.

Cette fixation est due aux lipoïdes du jaune d'œuf modifiés par la culture et qui, dans ce cas, se comportent comme un antigène syphilitique. Il y a donc lieu de pratiquer parallèlement les deux réactions: d'ailleurs beaucoup de sérums à réaction de Wassermann positive donnent une réaction négative avec la tuberculine.

On sait que le pouvoir fixateur des sérums syphilitiques est souvent diminué, quelquefois détruit par le chauffage à 56 degrés; ce chauffage est donc avantageux lorsqu'on doit effectuer une réaction de fixation avec la tuberculine; toutefois, les anticorps tuberculeux ne sont pas indifférents à l'action de la chaleur. Dans le cas d'un sérum non syphilitique, donnant une réaction douteuse avec la tuberculine, on pourra utilement répéter la réaction sur ce sérum non chauffé en suivant les indications données par l'un de nous (1).

La réaction de fixation chez les tuberculeux et les non tuberculeux.

Nous avons examiné le sang de 610 personnes, dont 580 ont pu être examinées cliniquement. Dans presque tous les cas nous avons effectué simultanément la réaction à la tuberculine et la réaction de Wassermann.

Nous avons étudié la réaction à tous les stades de la tuberculose pulmonaire et dans toutes les autres manifestations de la tuberculose. Nous avons étudié sa constance et son intensité chez un même malade, et nous avons recherché si elle était influencée par les affections intercurrentes les plus variées (fièvre typhoïde, paratyphoïde, grippe, rhumatisme, cirrhose, salpingites, péritonites, néoplasmes, etc.). Nous avons, d'autre part, étudié le sang de sujets sains et de sujets non tuberculeux atteints d'affections les plus diverses, autres que celles déjà citées (maladies éruptives, diphtérie, bronchite fétide, gangrène pulmonaire, anémies, arthrites, ulcères, pneumonie, érythème polymorphe, infection puerpérale, paraplégies, sar-

(1) E. Debains, *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 6 juin 1914.

come fémoral, tumeurs diverses, lymphadénites, échinococcose, dermatoses, etc).

Les sujets examinés se répartissent ainsi :

	NOMBRE des sujets examinés	RÉACTION positive p. 100
a) *Malades cliniquement tuberculeux* :		
1° Tuberculeux pulmonaires aux 2e et 3e degrés, avec mauvais état général	59	81,3
2° Tuberculeux pulmonaires aux 1er et 2e degrés, avec état général satisfaisant	95	90,3
3° Tuberculeux au début, ne présentant que des signes discrets ou douteux	61	93,4
4° Tuberculeux aux 1er et 2e degrés, atteints d'affections diverses	52	89,4
5° Tuberculose pleurale, avec épanchement	12	9 »
6° Tuberculose pleurale, sans épanchement	15	86,6
7° Méningites tuberculeuses	18	0
8° Granulie, typhobacillose	10	0
9° Tuberculoses diverses (sans lésions pulmonaires en activité)	75	96 »
Ces tuberculoses diverses se décomposent ainsi :		
Tuberculose osseuse . . . 24		
— articulaire (coxalgie) . . . 9		
— ganglionnaire . . . 18		
— péritonéale . . . 4		
— testiculaire . . . 4		
— urinaire (rénale) . . . 7		
— laryngée . . . 4		
— cutanée (lupus) . . . 5		
Total 75		
b) *Malades cliniquement non tuberculeux*	121	17,3
c) *Sujets sains*	62	3,2
Total	580	

Le nombre des réactions de Wassermann positives était de 24 p. 100 chez les malades cliniquement tuberculeux et de 35,5 p. 100 chez les autres malades. Cette forte proportion tient à la fois au rôle considérable joué par la syphilis en pathologie humaine et au fait que, parmi les 121 malades cliniquement non tuberculeux, un grand nombre étaient en pleine évolution de syphilis secondaire et en cours de traitement; ceci explique le nombre élevé de réactions positives constatées chez ces malades; lorsque la réaction de Wassermann est

fortement positive, et l'examen clinique douteux, on ne peut, au point de vue tuberculeux, conclure qu'avec réserve.

Chez les tuberculeux pulmonaires au troisième degré, grands cavitaires, cachectiques, fébricitants, la réaction peut être nulle ou partielle ; elle est très souvent négative chez les pleurétiques avec épanchement.

Les granuliques, les méningitiques donnent presque toujours une réaction négative, les anticorps tuberculeux étant probablement neutralisés par les produits de sécrétion du bacille de Koch (1). Parmi les tuberculeux considérés cliniquement comme guéris ou dont les lésions étaient en voie de cicatrisation et l'état général très satisfaisant, il a été fréquent d'observer des réactions partielles, voire négatives.

Pour plusieurs malades, l'analyse du sang et l'examen clinique ont pu être répétés plusieurs fois au cours d'une année (4 et 5 fois pour quelques-uns); nous avons pu ainsi vérifier la constance de la réaction.

Il est à remarquer que les tuberculoses diverses : osseuse, articulaire, ganglionnaire, urinaire, testiculaire péritonéale, laryngée et cutanée, donnent un nombre très élevé de réactions positives.

Dans quelques cas de tuberculose pulmonaire au deuxième degré, nettement caractérisée par l'examen clinique, la réaction a cependant été négative sans qu'on puisse donner de ce fait une explication plausible; ce sont des exceptions qu'on observe dans toutes les réactions biologiques.

Chez nombre de malades considérés comme suspects, les signes cliniques étant le plus souvent nuls ou douteux, nous avons observé une réaction positive.

Certains sujets chez lesquels on ne soupçonnait aucune lésion bacillaire et dont le sang réagissait positivement ont été soigneusement examinés.

Les uns ont présenté des signes très discrets; chez les autres, il a été impossible de constater aucun signe objectif; parmi ces derniers, il a été fréquent de rencontrer des personnes cohabitant ou ayant cohabité longtemps avec des tuberculeux.

Quelques personnes dont l'examen clinique avait été négatif

(1) Besredka, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLVI, p. 1633.

étant mortes d'affections diverses, il a été possible de constater à l'autopsie l'existence de lésions minimes mais très nettes. Un cas intéressant à signaler est celui d'une jeune fille de vingt ans atteinte d'érythème polymorphe dont le sang donnait une réaction positive, alors que l'auscultation pulmonaire était négative et qui, trois semaines plus tard, était frappée d'hémoptysie grave.

Conclusions.

De l'ensemble des faits que nous venons d'exposer, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

— *La tuberculine de Besredka fixe l'alexine en présence du sérum des tuberculeux dans presque toutes les formes de la tuberculose.*

— *La réaction de fixation, remarquablement constante et sensible, correspond à des lésions en évolution ou ayant présenté antérieurement un certain degré d'activité ; elle n'est pas sensiblement influencée par des affections intercurrentes.*

— *Contrairement à la cutiréaction, elle possède une grande valeur clinique et permet d'affirmer le diagnostic de tuberculose alors que les signes cliniques sont encore muets ou douteux. La tuberculine de Besredka offre donc au clinicien une ressource précieuse pour le diagnostic de la tuberculose au début.*

Chez les tuberculeux gravement atteints et chez les tuberculeux en voie de guérison, la réaction, devenant assez fréquemment partielle ou négative, peut, dans une certaine mesure, être utilisée pour le pronostic.

Janvier 1913 — Juin 1914.

RECHERCHES SUR LA FIXATION DES TOXINES PAR LES LEUCOCYTES

par KOBZARENKO

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Il y a plus de vingt ans que s'engagea la discussion entre les partisans de la théorie phagocytaire de Metchnikoff et ceux de la théorie des alexines de Büchner, et c'est surtout en ces cinq dernières années que de multiples recherches ont été consacrées à l'étude de cette question.

Finalement, les deux côtés opposés ont admis que les leucocytes sont capables, dans certains cas, de jouer un rôle actif dans la lutte contre les agents pathogènes, tout en restant impuissants dans certains autres.

Le rôle des leucocytes dans les maladies infectieuses est connu depuis les recherches classiques de Metchnikoff [1] et nous savons bien aujourd'hui que, dans beaucoup de processus infectieux (pneumocoque, streptocoque, staphylocoque), l'organisme lutte contre l'agent infectieux au moyen des globules blancs, qui sont envisagés par Metchnikoff, comme les principaux défenseurs de l'organisme non seulement contre les bactéries, mais également contre leurs toxines.

Tandis que Baumgarten [2] s'opposait énergiquement à cette doctrine, Schattenfroh [3] écarta toutes les objections en démontrant le premier que les leucocytes, complètement débarrassés de sérum, contiennent des substances bactéricides. Plus tard, Schneider [4], Much [5] et ses élèves Zeissler, Hossler, Sterk, etc., ont confirmé ce fait et ont considéré ces substances bactéricides des leucocytes comme les principaux agents antibactériens prenant naissance exclusivement dans les leucocytes et non aux dépens des substances humorales.

Petterson [6] et ses élèves Kling, Zindal, Stenström ont fait beaucoup de travaux importants dans cette voie et ont démontré que les leucocytes détruisent non seulement les bactéries telles que le bacille typhique, le bacille cholérique,

le pneumocoque et le streptocoque, mais aussi les bactéries du groupe du bacille tuberculeux et notamment le bacille tuberculeux humain.

D'après l'avis de ces auteurs, le corps des leucocytes vivants et même morts renferme des substances que Petterson a appelées endolysines, possédant la propriété de détruire les bactéries.

Gruber, Futaki [7], Bail [8] et Weil [9] partagent cette façon de voir et attribuent la fonction bactéricide non pas à la cellule vivante, mais aux substances chimiques qu'elle contient.

Mais si parfois ces matières ne sont pas actives après la mort de la cellule, cela tient à la difficulté qu'on éprouve à les extraire du corps de la cellule.

La propriété de ces substances de n'agir que durant la vie du leucocyte est expliquée par Petterson, par la circonstance que les bactéries sont soumises dans le corps du leucocyte, grâce au mouvement amiboïde de ce dernier, à l'action directe de l'endolysine.

Metchnikoff, au contraire, attribue la fonction bactéricide à l'action vitale des leucocytes et en particulier à la phagocytose.

Ainsi nous voyons que, malgré le rôle important que jouent les leucocytes vis-à-vis des bactéries, le caractère de cette activité est loin d'être défini. Nous connaissons encore moins le rôle des leucocytes dans la destruction des toxines et la production des anticorps. Metchnikoff est d'avis que les leucocytes absorbent les toxines et présentent la cause de l'immunité naturelle contre ces dernières. Cette façon de voir n'est pas partagée par Ehrlich : d'après sa théorie, le poison bactérien n'est fixé que par les cellules sur lesquelles il exerce son action destructive. Cette dernière théorie est basée principalement sur les recherches de Wassermann et Takaki [10] qui ont trouvé que la substance cérébrale et celle de la moelle épinière neutralisent la toxine tétanique.

Il est douteux qu'il y ait un rapport quelconque entre les antitoxines et la substance qui neutralise dans ces expériences le poison tétanique. Dernièrement, Petterson a démontré que les macrophages du lapin neutralisent aussi, quoique faiblement, le poison tétanique. Pour ce qui est de la neutralisation des toxines par les leucocytes, on se trouve ici également en face

d'une question encore obscure. C'est donc avec plaisir que j'ai accepté la proposition de Metchnikoff d'élucider le rôle des leucocytes dans la destruction des toxines.

Les résultats des recherches consacrées à cette question sont contradictoires et peu nombreux. Metchnikoff a trouvé chez les poules, qui sont, d'après ses expériences, peu sensibles à la toxine tétanique, que celle-ci est fixée par le sang et les glandes génitales; en inoculant plus tard à des poules de la toxine, il constata que le sang en contenait moins que l'exsudat riche en leucocytes. En partant de ces données, Metchnikoff arrive à la conclusion que les leucocytes sont capables d'absorber la toxine tétanique.

Metchnikoff explique l'action relativement faible des leucocytes par le fait que, dans le pus, tous les leucocytes se désagrègent, et que l'antitoxine passe dans le sérum.

Brieger, Kitasato et Wassermann ont trouvé que l'extrait de thymus de veau neutralise la toxine tétanique, mais ces expériences n'ont pu être confirmées par Petterson, qui a trouvé à son tour que seuls les macrophages de lapin peuvent, encore que faiblement, neutraliser le poison tétanique. Mancini [15] qui a travaillé avec les leucocytes de cheval, a trouvé qu'ils étaient incapables de neutraliser le poison tétanique.

Les mêmes résultats ont été obtenus par Stenström [16] qui faisait des expériences avec des leucocytes de cobayes et de rats.

D'après cet auteur, ni les leucocytes de rats, ni ceux de cobayes, ni les macrophages de cobayes ne sont capables de neutraliser la toxine diphtérique.

Wolff [17] conclut, à la suite de ses expériences, que les leucocytes de cobayes sont bien capables d'absorber la toxine tétanique, mais ne peuvent pas la neutraliser. De plus, il arrive à un résultat tout à fait imprévu : d'un mélange de toxine et d'antitoxine tétanique les leucocytes absorbent la première et deviennent toxiques.

Les résultats obtenus presque simultanément dans différents laboratoires par Schymanowsky, Friedberger [18], Massone [19] et Miyaji [20] sont très intéressants. Ces auteurs ont trouvé que non seulement la formation de la toxine anaphylactique est entravée considérablement en présence de leucocytes, mais même le poison déjà formé dans ces conditions perd sa toxicité.

On voit, d'après cette courte revue de la littérature, combien la question est loin d'être résolue.

Dans mes recherches sur la fixation de toxines par les leucocytes je me suis servi des toxines diphtérique et tétanique. Ces toxines ont été mises à ma disposition par le service sérothérapique de l'Institut Pasteur. Je déterminais la dose toxique pour le cobaye que j'ai choisi comme animal d'expérience.

Nos premières expériences ont été faites suivant la méthode de Petterson et Stenström.

L'émulsion de leucocytes provenant d'exsudat était mélangée à de la toxine, et ce mélange inoculé après un séjour d'une heure à l'étuve à 37°5.

Les leucocytes s'obtenaient par la méthode ordinaire.

On inoculait dans le péritoine de l'animal en question un mélange stérilisé de bouillon et d'aleurone à 5 p. 100 et, vingt heures plus tard, le péritoine de l'animal était lavé à la solution physiologique de chlorure de sodium contenant du citrate de soude à 0,5 p. 100.

Les leucocytes étaient séparés par centrifugation et lavés de nouveau avec la solution physiologique. Ils étaient ensuite pesés, mélangés avec la toxine et le mélange mis à l'étuve.

On inoculait aux cobayes soit ce mélange tel que, soit le liquide seul débarrassé des leucocytes par centrifugation.

Voici mes expériences :

Tableau I. *Toxine diphtérique + leucocytes de cobaye.* — Inoculation sous-cutanée aux cobayes d'un mélange : leucocytes + toxine. D'autres cobayes ont été inoculés avec la toxine seule comme témoins. La dose toxique était de 0,01 cent. cube; les animaux d'un poids de 200 grammes succombaient dans l'espace de 4 jours.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,4	250 gr.	6 jours.	240 gr.	6 jours.
0,01	0,6	280 gr.	4 jours.	270 gr.	5 jours.
0,015	0,5	215 gr.	3 jours.	220 gr.	3 jours.
0,02	0,5	230 gr.	2 jours.	240 gr.	2 jours.

Tableau II. *Même expérience*, mais au lieu d'inoculer le mélange de liquide et de leucocytes, on inocule le *liquide seul*.

Quantité de toxine	Quantité de leucocytes	Animaux d'expérience		Animaux témoins	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,4	235 gr.	6 jours.	240 gr.	6 jours.
0,01	0,6	265 gr.	5 jours.	270 gr.	5 jours.
0,015	0,5	200 gr.	3 jours.	220 gr.	3 jours.
0,02	0,6	230 gr.	2 jours.	240 gr.	2 jours.

Nous avons ainsi obtenu les mêmes résultats que M. Stenström : les leucocytes de l'exsudat de cobayes sont incapables de fixer ou d'absorber la toxine diphtérique *in vitro* après une heure de séjour à l'étuve.

Comme les cobayes sont très sensibles à l'action de la toxine diphtérique et que leurs leucocytes ne sont pas capables de lutter contre ce poison, je me suis décidé d'expérimenter avec les leucocytes de rats. Ne voulant pas répéter les expériences du Stenström, qui a également travaillé avec les leucocytes de rats, je me suis attaché à obtenir les macrophages de ces animaux. Besredka avait vu en effet que les macrophages pouvaient empêcher l'intoxication par le sulfate d'arsenic et Petterson constate une action analogue vis-à-vis de la toxine tétanique.

Pour obtenir ces cellules je me suis servi de la méthode du Kling [21] ; on prépare un mélange de blanc d'œuf très finement trituré et de liquide physiologique. On injecte ce mélange à deux reprises, à vingt-quatre heures d'intervalle et on tue l'animal quatre jours après. On obtient ces macrophages par la même méthode qu'on a employé pour obtenir les leucocytes.

Pour obtenir les macrophages chez les rats j'ai injecté à ces animaux la dose de 3 cent. cubes du mélange décrit ci-dessus et j'ai obtenu 60 à 65 p. 100 de macrophages.

TABLEAU III. *Macrophages de rats.*
La marche de l'expérience est la même que celle du tableau I.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de macrophages	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,4	200 gr.	6 jours.	180 gr.	6 jours.
0,01	0,5	210 gr.	4 jours.	200 gr.	5 jours.
0,015	0,5	205 gr.	2 jours.	210 gr.	2 jours.
0,02	0,5	190 gr.	1 jour.	170 gr.	1 jour.

TABLEAU IV. *Macrophages de rats.*
La marche de l'expérience est la même que celle du tableau I.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de macrophages	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,6	185 gr.	5 jours.	180 gr.	6 jours.
0,01	0,5	175 gr.	4 jours.	200 gr.	5 jours.
0,015	0,4	190 gr.	2 jours.	210 gr.	2 jours.
0,02	0,6	200 gr.	2 jours.	170 gr.	1 jour.

Ainsi les macrophages de rats ne sont capables ni d'absorber, ni de neutraliser *in vitro* la toxine diphtérique après un séjour d'une heure à l'étuve.

Il était intéressant de voir agir ces macrophages non *in vitro* mais *in vivo*. Dans ce but, avant d'inoculer la toxine, j'avais provoqué dans le péritoine de rats une leucocytose avec prédominance de macrophages et ensuite j'ai inoculé de la toxine diphtérique. Les animaux ont succombé comme dans les cas précédents. Il est fort possible qu'ici la toxine ait été absorbée avant que l'action des macrophages ait pu s'exercer. En tenant compte de la circonstance que ces leucocytes extraits ne sont plus des cellules normales, il était intéressant de voir comment se comporteraient vis-à-vis la toxine les leucocytes extraits du

sang de l'animal. On pouvait penser en effet que les leucocytes provenant d'exsudats, tout en conservant leur capacité phagocytaire, ont perdu leur faculté d'absorption grâce à la quantité de bouillon qu'ils ont avalé.

Pour obtenir les leucocytes du sang je me suis servi de chevaux de l'abattoir municipal, ayant soin de choisir toujours des chevaux bien portants et n'ayant pas plus de huit ans d'âge. Pour avoir des leucocytes à l'état frais je prenais pour chaque expérience une nouvelle portion de sang.

Pour extraire les leucocytes du sang de chevaux je me suis servi de la méthode Hekta [22] en modifiant un peu sa technique. On ajoute au sang, pour en empêcher la coagulation, une solution de citrate de soude à 1,2 p. 100 et de chlorure de sodium à 0,8 p. 100. On laisse déposer les globules rouges et on sépare les leucocytes surnageants par centrifugation. D'après les expériences de Hekta [22] et Hamburger [23] une solution de citrate de soude à 0,4 p. 100 n'a aucune influence sur l'activité vitale des leucocytes, surtout si ces derniers ont été ensuite lavés avec la solution physiologique. Ordinairement j'ai opéré de la manière suivante : je mettais dans une haute éprouvette 250 cent. cubes d'une solution préparée avec le citrate à 1,2 p. 100. Je stérilisais le tout à l'autoclave. Ensuite, je recueillais dans cette éprouvette le sang veineux d'un cheval à l'aide d'un trocart muni d'un tube en caoutchouc. J'obtenais de cette manière du sang qui contenait 0,3 p. 100 de citrate de soude. Cette quantité suffit amplement pour empêcher la coagulation.

Je laissais déposer le sang dans cette même éprouvette pendant deux heures, temps nécessaire pour que les globules rouges tombent au fond du vase, tandis que les globules blancs restent en suspension dans le liquide trouble. On décante le liquide surnageant dans des tubes, on le centrifuge pendant une demi-minute (centrifugeur électrique). Chaque litre de sang me donnait environ 15 tubes. Après la centrifugation, il se forme au fond de chaque tube un dépôt de globules blancs avec une petite quantité de globules rouges. Pour débarrasser les globules blancs de globules rouges je réunissais le dépôt dans un tube et je le laissai déposer pendant deux heures. Après ce temps, on trouve au fond du tube surtout les globules blancs qui s'agglomèrent facilement, tandis que les globules rouges

avec une petite partie des globules blancs sont restés en suspension dans le liquide.

Les globules blancs ainsi obtenus sont lavés avec de la solution physiologique, pesés à l'état humide et examinés au moyen d'une certaine méthode de coloration, dont je parlerai plus bas, afin de déterminer s'ils ont conservé leur vitalité.

Ordinairement, pour chaque dose de toxine, je prenais 0,4 à 0,5 centimètre cube de leucocytes. Avec les leucocytes ainsi obtenus, qui, dans la plupart des cas étaient des polynucléaires, je mettais les expériences en train dans le même ordre qu'avec les leucocytes provenant des exsudats. J'ajoutais à chaque dose de toxine les leucocytes et je mettais le mélange à l'étuve à 37°5 en tenant compte de la quantité du mélange, qui devait être partout la même. La toxine sans leucocytes qui devait servir comme témoin était également placée à l'étuve pendant une heure.

Ensuite, j'inoculais aux animaux soit le mélange tel quel, soit la partie liquide seule débarrassée de leucocytes par centrifugation.

La première façon de faire permettait de se rendre compte de la neutralisation de la toxine, la seconde de son absorption dans le cas où la neutralisation de la toxine ne se produisait pas.

Tableau V. *Toxine diphtérique + leucocytes de cheval.* — Inoculation sous-cutanée aux cobayes du mélange, après séjour d'une heure à l'étuve. La dose mortelle de toxine reste la même. Les animaux témoins sont inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,4	310 gr.	6 jours.	325 gr.	7 jours.
0,01	0,5	290 gr.	5 jours.	300 gr.	5 jours.
0,015	0,5	300 gr.	5 jours.	310 gr.	2 jours.
0,02	0,5	300 gr.	2 jours.	300 gr.	12 heures.

Tableau VI. *Toxine diphtérique + leucocytes de cheval*, après un séjour d'une heure à l'étuve. On inocule la partie liquide séparée des leucocytes par centrifugation. Les animaux témoins sont inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,5	315 gr.	6 jours.	320 gr.	7 jours.
0,01	0,5	310 gr.	4 jours.	300 gr.	5 jours.
0,015	0,4	300 gr.	3 jours.	310 gr.	2 jours.
0,02	0,4	230 gr.	2 jours.	300 gr.	12 heures.

Ainsi nous voyons que les leucocytes provenant du sang de cheval de même que les leucocytes provenant de l'exsudat n'ont aucune influence sur la toxine diphtérique après séjour d'une heure à l'étuve. Ils sont incapables ni d'absorber, ni de neutraliser la toxine.

En partant de cette considération que la neutralisation de toxines dans l'organisme en cas de maladie doit se produire très lentement et non dans l'espace d'une heure comme je l'ai fait dans mes expériences, j'ai décidé de prolonger la durée de l'action de leucocytes et comme essai préliminaire j'ai prolongé le contact pendant douze heures. Une autre circonstance justifiant ma thèse était que nos expériences se faisaient non dans l'organisme vivant, mais avec des leucocytes affaiblis par les différentes manipulations auxquelles ils ont été soumis, comme la centrifugation et l'action du citrate de soude. Dans ces conditions on ne peut pas exiger d'eux une action aussi énergique que lorsqu'ils agissent au sein de l'organisme même L'action des leucocytes *in vitro* doit être plus lente et même, si dans l'organisme la neutralisation de toxines par les leucocytes se produit très vite, on ne doit pas s'attendre à ce qu'ils produisent le même effet en dehors de ce dernier.

On peut évidemment nous objecter que le séjour de douze heures à l'étuve peut être nuisible pour les leucocytes en raison de quoi les résultats obtenus seront faux. Je n'ai pu trouver d'indications sur ce sujet dans la littérature et j'ai étudié

l'action du séjour à l'étuve sur les leucocytes dans toute une série d'expériences.

Pour juger de la vitalité des leucocytes, je me suis servi comme Wolff de la méthode de Nakanishi [24].

Cette méthode est basée sur le fait que les noyaux des leucocytes morts fixent les colorants, tandis que les noyaux des leucocytes vivants restent incolores. La coloration se fait de la manière suivante : on mélange sur une lame des leucocytes humides avec une solution de bleu de méthylène; on couvre le tout avec une lamelle et on examine tout de suite sous le microscope ayant soin de procéder toujours rapidement car les leucocytes succombent très vite sous la lamelle dans la solution du bleu de méthylène.

Il faut tâcher d'éviter que les leucocytes ne se collent les uns aux autres pour former des amas, car dans ce dernier cas ils ne sont pas attaqués par le colorant et les leucocytes morts produisent l'effet de leucocytes vivants. Enfin, il faut tenir compte du fait que les noyaux des leucocytes morts depuis longtemps peuvent également perdre la propriété de se colorer. Dans ce cas, on peut observer la sortie du protoplasme de sa membrane. Ainsi, avec une certaine habitude, on peut apprécier la quantité de cellules vivantes et de cellules mortes. Pour juger de l'influence du séjour à l'étuve sur les leucocytes, j'ai analysé la préparation toutes les deux heures.

Tableau VII.

SÉJOUR A L'ÉTUVE	QUANTITÉ DE LEUCOCYTES VIVANTS, p. 100.
Après 2 heures	90 p. 100
Après 4 heures	85 —
Après 6 heures	75 —
Après 8 heures	70 —
Après 12 heures	65 —
Après 24 heures	50 —
Après 48 heures	5 —

On voit d'après cette table que plus de la moitié des leucocytes gardent leur vitalité après un séjour de douze heures à l'étuve à 37°5.

Je vais citer mes expériences faites dans les mêmes condi-

tions que les précédentes, en modifiant seulement le temps du séjour à l'étuve aussi bien du mélange de leucocytes et de toxines que de la toxine seule qui servait pour les animaux témoins.

Tableau VIII. *Toxine diphtérique + leucocytes de cheval.* — Inoculation sous-cutanée aux cobayes après un séjour de douze heures à l'étuve. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : survivent	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,5	325 gr.	6 jours.	335 gr.	7 jours.
0,01	0,4	340 gr.	6 jours.	350 gr.	5 jours.
0,015	0,4	320 gr.	6 jours.	330 gr.	3 jours.
0,02	0,6	300 gr.	6 jours.	310 gr.	2 jours.

Tableau IX. *Toxine diphtérique + leucocytes de cheval.* — Inoculation sous-cutanée du liquide seul, séparé des leucocytes par centrifugation après un séjour de douze heures à l'étuve du mélange tout entier.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,6	345 gr.	Survit.	385 gr.	7 jours.
0,01	0,5	355 gr.	Survit.	350 gr.	5 jours.
0,015	0,6	320 gr.	Survit.	330 gr.	3 jours.
0,02	0,5	300 gr.	Survit.	310 gr.	2 jours.

Ces deux expériences ont été répétées et les résultats obtenus ont été toujours les mêmes. Nous voyons d'après ces expériences que les leucocytes de cheval ayant séjourné douze heures à l'étuve détruisent la toxine diphtérique, car ni le mélange de toxine + leucocytes, ni le liquide obtenu par centrifugation ne se montrent plus toxiques.

Pour être plus sûr que nous sommes ici en présence d'un

phénomène de neutralisation de la toxine et non de son absorption par les leucocytes, j'ai fait l'expérience suivante : le mélange de leucocytes et de toxine fut laissé à l'étuve douze heures à 37°5. On le centrifuge ensuite pour séparer les leucocytes du liquide, et on inocule aux cobayes séparément le liquide et les leucocytes. Le liquide inoculé comme d'habitude provenait d'une dose de toxine + leucocytes, tandis que les leucocytes inoculés provenaient de deux doses pareilles. De sorte que, si les leucocytes ne faisaient qu'absorber la toxine sans la neutraliser, la dose double devait se montrer plus toxique que la dose simple.

Tableau X. *Toxine diphtérique + leucocytes de cheval.* — Après un séjour de douze heures du mélange à l'étuve, on inocule séparément le liquide et les leucocytes. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LIQUIDE		ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LEUCOCYTES		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,5	240 gr.	Survit.	205 gr.	Survit.	255 gr.	7 jours.
0,01	0,5	200 gr.	Survit.	205 gr.	Survit.	230 gr.	4 jours.
0,015	0,5	220 gr.	Survit.	200 gr.	Survit.	240 gr.	4 jours.
0,02	0,5	210 gr.	Survit.	200 gr.	Survit.	220 gr.	3 jours.

On peut dire, en se basant sur cette expérience, que les leucocytes neutralisent la toxine diphtérique.

On peut objecter à ces résultats que tous ces phénomènes étaient dus au sérum du sang, duquel les leucocytes n'auraient pas été suffisamment débarrassés par les lavages.

Pour contrôler ce point j'ai fait une autre expérience en utilisant le sérum du même cheval après y avoir ajouté la même quantité de citrate.

Tableau XI. *Toxine diphtérique + sérum de cheval.* — Inoculation aux cobayes après le séjour du mélange de douze heures à l'étuve. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule. L'expérience a été répétée à plusieurs reprises.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de sérum	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	1 c. c.	250 gr.	7 jours.	255 gr.	7 jours.
0,01	1 c. c.	220 gr.	5 jours.	230 gr.	4 jours.
0,015	1 c. c.	230 gr.	4 jours,	240 gr.	4 jours.
0,02	1 c. c.	215 gr.	2 jours.	220 gr.	3 jours.

Il est évident que le sérum n'a aucune action sur la toxine diphtérique.

Il nous reste encore à étudier l'action des leucocytes morts sur la toxine et nous assurer aussi si leur capacité de fixer la toxine n'est pas une propriété physico-chimique.

Pour répondre à cette question, je tuais les leucocytes récemment obtenus par un chauffage d'une heure au bain-marie à 55 degrés, après quoi tous les leucocytes se colorent par le bleu de méthylène. J'ai procédé ensuite de la même façon que pour les leucocytes vivants. J'ai inoculé aux cobayes soit le mélange contenant les leucocytes + toxine après son séjour de douze heures à l'étuve, soit le liquide séparé des leucocytes par centrifugation, soit enfin les leucocytes et le liquide séparément.

Tableau XII. *Toxine diphtérique + leucocytes morts.* — Inoculation du mélange aux cobayes après séjour à l'étuve. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,5	250 gr.	7 jours.	260 gr.	6 jours.
0,01	0,4	200 gr.	5 jours.	210 gr.	5 jours.
0,015	0,4	220 gr.	3 jours.	200 gr.	4 jours.
0,02	0,5	210 gr.	2 jours.	215 gr.	2 jours.

TABLEAU XIII. L'expérience est faite dans les mêmes conditions que la précédente, mais au lieu du mélange on inocule le liquide séparé de leucocytes par centrifugation.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,4	270 gr.	5 jours.	260 gr.	6 jours.
0,01	0,5	250 gr.	4 jours.	210 gr.	5 jours.
0,015	0,5	210 gr.	4 jours.	200 gr.	4 jours.
0,02	0,6	220 gr.	3 jours.	215 gr.	2 jours.

TABLEAU XIV. Même expérience que les précédentes, avec le seul changement que le liquide fut inoculé à part et les leucocytes à part, après un séjour du mélange à l'étuve pendant douze heures. Les quantités inoculées ont été les suivantes : le liquide provenant d'une seule dose de toxine + leucocytes, tandis que les leucocytes provenaient d'une dose double. La distribution était ici la même que celle du tableau X, avec la différence que les leucocytes employés avaient été tués.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LIQUIDE		ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LEUCOCYTES		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,008	0,5	200 gr.	3 jours.	190 gr.	Survivants.	205 gr.	4 jours.
0,01	0,4	185 gr.	3 jours.	190 gr.	—	180 gr.	3 jours.
0,015	0,5	180 gr.	2 jours.	210 gr.	—	190 gr.	2 jours.
0,02	0,5	190 gr.	2 jours.	210 gr.	—	185 gr.	12 heures.

Il résulte de ces trois expériences que les leucocytes morts n'ont aucune influence sur la toxine, car le liquide séparé par centrifugation, ainsi que le mélange du liquide avec les leucocytes, exercent la même action que la toxine seule. De plus, les leucocytes seuls après la séparation du liquide se montrent dépourvus d'action toxique, tandis que le liquide la conserve tout entière, comme on le voit d'après le tableau XIV. Ce résultat prouve nettement l'incapacité des leucocytes morts d'absorber la toxine.

On pouvait objecter à cette dernière expérience le fait que nous ne savons pas si les leucocytes vivants de ce cheval auraient eu une autre action que les leucocytes morts. Pour répondre à cette objection, j'ai fait des expériences avec des leucocytes morts et vivants provenant d'un seul cheval et provenant de la même portion de sang.

TABLEAU XV. *Toxine diphtérique + leucocytes vivants. Toxine diphtérique + leucocytes morts.* — Inoculation du mélange aux cobayes après un séjour de douze heures à l'étuve. *Animaux témoins : toxine seule.*

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LEUCOCYTES VIVANTS		ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LEUCOCYTES MORTS		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,011	0,5	175 gr.	Survivants.	185 gr.	4 jours.	180 gr.	4 jours.
0,01	0,5	180 gr.	—	170 gr.	3 jours.	195 gr.	2 j. 1/2.
0,015	0,5	185 gr.	—	160 gr.	2 jours.	175 gr.	2 jours.
0,02	0,5	170 gr.	—	190 gr.	1 j. 1/2.	185 gr.	1 jour.

Cette expérience nous montre que les leucocytes vivants neutralisent la toxine diphtérique, tandis que les leucocytes morts restent indifférents vis-à-vis de cette dernière.

Il faut conclure de ce qui précède que les leucocytes provenant du sang de cheval sont capables de neutraliser des quantités considérables de toxine diphtérique et qu'il suffit de 0,5 de leucocytes pour que la neutralisation de deux doses mortelles de toxine pour le cobaye se produise. De plus, ce sont seulement les leucocytes vivants qui possèdent la propriété de neutraliser la toxine et cette propriété est le résultat de leur activité et non une propriété physico-chimique de leur protoplasme.

J'avais grand intérêt à voir si la neutralisation de la toxine ne se produirait pas avec un séjour à l'étuve de moins de douze heures.

J'ai fait dans ce but l'expérience suivante : une série de tubes contenant le mélange de toxine + leucocytes ont été placés à l'étuve pendant dans des temps variables et ensuite j'ai inoculé ces mélanges aux cobayes.

Tableau XVI. *Leucocytes vivants + toxine diphtérique*, ayant subi un séjour à l'étuve de deux, quatre, huit, seize heures. Ensuite, j'ai inoculé aux cobayes le mélange de toxine + leucocytes. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule après un séjour de six heures à l'étuve.

TEMPS de séjour à l'étuve	QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
			Poids des animaux	Résultats : mort après	Poids des animaux	Résultats : mort après
2 heures.	0,008	0,5	185 gr.	2 jours.	170 gr.	4 jours.
2 heures.	0,01	0,4	175 gr.	4 jours.	180 gr.	2 jours.
4 heures.	0,01	0,5	200 gr.	Survit.	170 gr.	4 jours.
4 heures.	0,015	0,5	195 gr.	7 jours.	180 gr.	2 jours.
6 heures.	0,01	0,4	200 gr.	Survit.	170 gr.	4 jours.
6 heures.	0,015	0,4	195 gr.	—	170 gr.	2 jours.
6 heures.	0,015	0,4	185 gr.	Survit.	170 gr.	4 jours.
6 heures.	0,02	0,4	190 gr.	—	180 gr.	2 jours.

Ainsi nous voyons qu'il suffit d'un séjour de quatre heures à l'étuve pour que la neutralisation de la toxine par les globules blancs se produise. En ce moment, 85 p. 100 des leucocytes gardent encore leur vitalité.

Je passe à présent aux expériences faites avec la toxine tétanique.

Dans ce dernier cas, j'ai étudié l'influence des leucocytes extraits du sang de cheval. La méthode d'extraction des leucocytes nous est déjà connue et je cite seulement les résultats obtenus.

Tableau XVII. *Leucocytes de cheval + toxine tétanique.* — Inoculation sous-cutanée du mélange aux cobayes après un séjour d'une heure à l'étuve. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort après	Poids des animaux	Résultats : mort après
0,015	0,5	220 gr.	7 jours.	210 gr.	6 jours.
0,0025	0,4	200 gr.	5 jours.	215 gr.	5 jours.
0,0055	0,5	195 gr.	3 jours.	200 gr.	5 jours.

Tableau XVIII. *Leucocytes de cheval + toxine tétanique* — Inoculation aux cobayes du liquide séparé de leucocytes par centrifugation après un séjour du mélange à l'étuve pendant une heure. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,0015	0,5	210 gr.	8 jours.	210 gr.	6 jours.
0,0025	0,5	185 gr.	5 jours.	215 gr.	5 jours.
0,0035	0,4	195 gr.	3 jours.	200 gr.	5 jours.

Tout d'abord, j'ai étudié l'influence sur les cobayes de ces leucocytes après leur séjour durant une heure à l'étuve en présence de la toxine et ensuite après un séjour de douze heures. La dose mortelle de toxine tétanique était de 0,002 et tuait un cobaye du poids de 200 grammes dans l'espace de cinq jours.

De sorte que nous voyons que les leucocytes de cheval sont incapables d'absorber ou de neutraliser la toxine tétanique. Pour confirmer l'absence d'absorption, je cite une expérience faite avec la toxine tétanique.

Tableau XIX. *Leucocytes de cheval + toxine tétanique.* — Après un séjour d'une heure à l'étuve, j'ai inoculé aux cobayes séparément le liquide et les leucocytes. La portion des leucocytes provenait d'une dose double du mélange toxique. Le liquide a été inoculé comme d'habitude. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LIQUIDE		ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LEUCOCYTES		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,002	0,5	190 gr.	5 jours.	190 gr.	Survit.	200 gr.	6 jours.
0,0035	0,6	215 gr.	4 jours.	190 gr.	Survit.	218 gr.	3 jours.
0,004	0,6	185 gr.	2 jours.	185 gr.	Survit.	220 gr.	2 jours.
0,0045	0,6	170 gr.	2 j. 1/2	185 gr.	Survit.	200 gr.	1 j. 1/2

Cette expérience nous montre que les leucocytes n'absorbent dans aucun cas la toxine tétanique, car tandis que le liquide provenant du mélange des leucocytes avec la toxine est aussi toxique que la toxine elle-même, les leucocytes restent inoffensifs. De sorte que nos résultats diffèrent complètement de ceux obtenus par M. Wolff. D'après cet auteur, la toxine tétanique est absorbée non seulement par les leucocytes vivants, mais aussi par les leucocytes morts. Il me semble que les résultats obtenus par M. Wolff dépendaient de la méthode qu'il employait. Du mélange de toxine et de leucocytes après son séjour à l'étuve il inoculait non la partie liquide, mais les leucocytes soigneusement lavés en se servant d'une forte quantité de toxine. Les leucocytes se trouvant dans un milieu très toxique gardaient, même après des lavages répétés, une dose de toxine suffisante pour tuer les souris.

Si M. Wolff réussissait à obtenir des eaux de lavage non toxiques, nous pouvons expliquer ce phénomène par la supposition que la membrane des leucocytes était imbibée par cette solution si riche en toxine, ce qui empêchait le passage de cette dernière dans les eaux de lavage.

Pour rendre ces expériences probantes, il aurait fallu montrer qu'une poudre inerte quelconque mélangée dans les mêmes conditions à de la toxine tétanique pourrait en être complètement débarrassée par une triple centrifugation.

Tableau XX. — *Leucocytes de cheval + toxine tétanique.* — Inoculation du mélange après un séjour de douze heures à l'étuve. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,002	0,5	215 gr.	6 jours.	220 gr.	5 jours.
0,0025	0,5	225 gr.	4 jours.	210 gr.	4 jours.
0,003	0,5	260 gr.	5 jours.	230 gr.	3 jours.
0,004	0,6	230 gr.	3 jours.	225 gr.	2 jours.

Tableau XXI. — *Leucocytes de cheval + toxine tétanique.* — Inoculation aux cobayes du liquide séparé par centrifugation après un séjour de douze heures à l'étuve. Les leucocytes sont inoculés séparément comme dans le tableau XIX. Les animaux témoins reçoivent la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LIQUIDE		ANIMAUX D'EXPÉRIENCE LEUCOCYTES		ANIMAUX D'EXPÉRIENCE	
		Poids des animaux	Résultats : mort au bout de	Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,002	0,6	210 gr.	8 jours.	220 gr.	Survit.	220 gr.	6 jours.
0,0025	0,5	235 gr.	6 jours.	220 gr.	Survit.	210 gr.	4 jours.
0,003	0,5	220 gr.	4 jours.	235 gr.	Survit.	230 gr.	3 jours.
0,004	0,6	215 gr.	4 jours.	235 gr.	Survit.	225 gr.	2 jours.

On voit d'après ces expériences que les leucocytes de cheval sont incapables, même après un séjour de douze heures à l'étuve, de neutraliser ou d'absorber la toxine tétanique, car, tandis que le liquide reste aussi toxique que la toxine elle-même, les leucocytes séparés de ce liquide restent tout à fait inoffensifs.

Il est évident que la toxine tétanique est un poison sur lequel les globules blancs du cheval sont sans action, au moins en dehors de l'organisme. Il est possible qu'une durée plus longue et des conditions plus favorables soient nécessaires pour que la réaction se produise. J'avais l'intention de continuer mes recherches en expérimentant avec le sang de lapins, qui sont des animaux moins sensibles, mais malheureusement je n'ai pas réussi à en extraire les leucocytes, car leur sang se dépose si lentement que les globules blancs tombent au fond du vase en même temps que les globules rouges, et la quantité de leucocytes obtenus dans cette opération n'était pas suffisante. Voilà pourquoi j'ai décidé de continuer mes recherches sur les globules blancs provenant de l'exsudat péritonéal de lapins.

Pour extraire les globules blancs, j'ai inoculé dans le péritoine de lapins du bouillon mélangé avec de l'aleurone et contenant du blanc d'œuf à 1/10. J'ai injecté ce mélange à deux reprises dans l'intervalle de quatre jours. Ensuite, j'ai lavé le péritoine par la méthode ordinaire en me servant de solution

physiologique contenant 0,4 p. 100 de citrate de soude et j'ai obtenu 1.2 gr. de globules blancs de chaque lapin. Les globules blancs obtenus renfermaient 15 à 20 p. 100 de macrophages.

TABLEAU XXII.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes.	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,002	0,4	180 gr.	Survit.	170 gr.	3 jours.
0,0003	0,4	175 gr.	m. ap 7 j.	200 gr.	3 jours.
0,0035	0,5	190 gr.	m. ap. 6 j.	185 gr.	2 jours.
0,004	0,5	185 gr.	m. ap. 5 j.	175 gr.	2 jours.

Dans cette expérience j'ai inoculé aux cobayes le liquide séparé par centrifugation du mélange de globules et de toxine qui a séjourné à l'étuve pendant douze heures.

TABLEAU XXIII. *Toxine tétanique + globules blancs*, contenant la même quantité de macrophages. Après un séjour à l'étuve de douze heures on inocule le mélange. Les animaux témoins ont été inoculés avec la toxine seule.

QUANTITÉ de toxine	QUANTITÉ de leucocytes	ANIMAUX D'EXPÉRIENCE		ANIMAUX TÉMOINS	
		Poids des animaux	Résultats	Poids des animaux	Résultats : mort au bout de
0,002	0,4	170 gr.	Survit.	130 gr.	4 jours.
0,003	0,4	165 gr.	m. ap. 7 j.	200 gr.	3 jours.
0,0035	0,4	180 gr.	m. ap. 5 j.	185 gr.	3 jours.
0,004	0,4	175 gr.	m. ap. 4 j.	175 gr.	1 j. 1/2

Ces expériences nous montrent que les globules blancs provenant de l'exsudat qui contenait 20 p. 100 de macrophages sont capables, quoique très faiblement, de neutraliser la toxine tétanique. Faute de temps, je n'ai pu continuer mes recherches, et la question de savoir si ce sont les leucocytes polynucléaires

ou les macrophages qui ont agi dans ce dernier cas reste pour le moment ouverte.

M. Petterson considère que les macrophages sont les seuls éléments capables d'agir sur la toxine diphtérique. En tout cas, on peut supposer que les globules blancs de lapin, qui contiennent également dans leur composition des macrophages, sont capables de neutraliser la toxine tétanique. Les résultats peu nets que j'ai obtenus dépendent probablement de ma technique que, faute de temps, je n'ai pu perfectionner. Il est fort probable que les leucocytes des autres animaux neutralisent également cette toxine, mais il peut aussi arriver que les leucocytes de différentes origines se comportent différemment envers diverses toxines.

Si les recherches faites avec la toxine tétanique sont incomplètes et ont besoin d'être confirmées, on ne peut pas en dire autant de l'action des leucocytes de cheval sur la toxine diphtérique. Ce fait de la neutralisation de la toxine nous montre nettement que les globules blancs sont les défenseurs de l'organisme non seulement contre les bactéries, mais aussi bien contre leurs toxines et constituent un facteur important d'immunité naturelle contre ces dernières.

En résumé, nous pouvons formuler les conclusions suivantes :

1. Les leucocytes de cheval possèdent la propriété de neutraliser le poison diphtérique et cette capacité ne dépend pas de la propriété physico-chimique de leur protoplasme, mais bien de leur activité vitale.

2. Les leucocytes de cheval ne sont capables ni d'absorber, ni de neutraliser le poison tétanique. Seuls les leucocytes de lapin renfermant 15 à 20 p. 100 de macrophages possèdent cette propriété, mais l'effet de ce mélange n'est pas très prononcé.

3. Les leucocytes sont les défenseurs de l'organisme dans sa lutte contre les agents pathogènes et leurs toxines et déterminent l'immunité naturelle contre ces dernières.

Avant de finir, je prends la liberté d'exprimer ma plus profonde reconnaissance à M. le professeur Metchnikoff aussi bien

pour le sujet du présent travail que pour ses précieuses indications.

J'exprime également ma gratitude à MM. les D[rs] Besredka et Wollman, qui se sont toujours montrés disposés à me servir de leurs conseils amicaux.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

[1] Metchnikoff. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, 1889.
[2] Metchnikoff. — *Ergebn. d. allgem. Pathol., Lubarsch und Ostertag*, Bd II.
[3] Schattenfroh. — *Arch. f. Hyg.*, Bd XXXI-XXXV.
[4] Schneider. — *Münch. med. Woch.*, 1908, n° 10; — *Arch. f. Hyg.*, Bd LXX.
[5] Much. — *Mitteil. a. d. Hamburger Staatskrankenanstalt*, Bd III.
[6] Petterson. — *Zeitschr. f. Immunit.*, Bd I, Orig.; — *Zentralbl. f. Bakter.*, 1 Abt., Orig., Bd L.
[7] Grüber und Futaki. — *Münch. med. Woch.*, 1907, p. 249.
[8] Bail. — *Arch. f. Hyg.*, Bd XXX-XXXII; — *Centralbl. f. Bakter.*, Bd XXXIII.
[9] Weil. — *Arch. f. Hyg.*, Bd LXX-LXXI.
[10] Wassermann et Takaki. — *Berlin. med. Wochenschr.*, 1898, p. 5.
[11] Petterson. — *Zeitschr. f. Immunit.*, Bd VIII, Orig.
[12] Metchnikoff. — *Annales de l'Institut Pasteur*. Vol. VI, 1897.
[13] Vaillard et Roux. — *Annales de l'Institut Pasteur*. Vol. VI, 1892.
[14] Brieger, Kitasato et Wassermann. — *Zeitschr. f. Hyg.*, etc., Bd XII, 1892.
[15] Mancini. — *Biochemische Zeitschr.*, Bd XXIX, p. 140, 1910.
[16] Stenström. — *Zeitschr. f. Immunit.*, Bd VIII, Orig.
[17] Wolf. — *Zeitschr. f. Immunit.*, Bd XVIII.
[18] Friedberger und Szymanowski. — *Zeitschr. f. Immunit.*, Bd XI, Orig.
[19] Massone. — *Berlln. klin. Wochenschr.*, n° 52, 1911.
[20] Miyaji. — *Zeitschr. f. Immunit.*, Bd XII.
[21] Kling. — *Zeitschr. f. Immunit.*, Bd VII.
[22] Hekta. — *Bioch. Zeitschr.*, Bd XI, 1908.
[23] Hamburger. — *Untersuchung. von Leucocyten*, 1913.
[24] Nakanishi. — *Deutsch. med. Wochenschr.*, n° 6. 1900.
[25] Vaillard et Roget. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, 1892.
[26] Salomonsen et Madsen. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XI, 1897.

ERRATUM

Mémoire de Ét. Burnet : *La prétendue destruction des bacilles de Koch dans le péritoine des cobayes tuberculeux* (mars 1915).

Page 135, ligne 8, en partant du bas, *lire* : d'anticorps circulants, *dont le rôle* n'est pas démontré.

Le Gérant : G. Masson.

Paris — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

29e ANNÉE MAI 1915 N° 5

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA RÉSISTANCE DES POULES A L'INFECTION PAR LE « SPIROCHÆTA GALLINARUM » APRÈS THYROÏDECTOMIE OU SPLÉNECTOMIE

par L. LAUNOY et M. LÉVY-BRUHL

Au cours des recherches hématologiques sur la spirillose des poules [1], nous avons été frappés de certains caractères de cette affection qui en font un objet particulièrement favorable pour l'étude de l'immunité et de la résistance de l'organisme à l'infection. On observe, en effet, d'une part, une évolution clinique toujours identique, à marche cyclique, accompagnée de réactions sanguines constantes et très nettes; d'autre part, l'établissement d'un état d'immunité absolue avec pouvoir vaccinant du sérum de la poule guérie.

L'existence au cours de cette affection d'une splénomégalie déjà signalée par Marchoux et Salimbeni [2] dans leur étude de la spirillose spontanée des poules du Brésil (rate triplée de volume), splénomégalie que nous avons retrouvée dans l'infection expérimentale, et la constatation de l'hypertrophie de glandes thyroïdes, nous ont amenés à rechercher si ces organes jouent un rôle essentiel dans la résistance de l'animal à l'infection et dans la production des anticorps, et si leur ablation préalable modifie l'évolution de la maladie. Nous apportons ici les résultats de ces expériences.

Nous nous servions de poules adultes, du poids de 1 à 2 kilogrammes, que nous infections avec du sérum frais ou

conservé à la glacière. Nous ne reviendrons pas ici sur les caractères cliniques et hématologiques de l'affection ainsi produite (voir notre mémoire précédent). Rappelons seulement que la poule guérie se trouve immunisée contre un nouvel essai de réinfection et que, de plus, son sérum possède un pouvoir vaccinant; injecté préventivement à un animal neuf, il prévient le développement de la spirillose.

I. — ROLE DES GLANDES THYROÏDES

La participation des glandes thyroïdes à l'établissement de l'état d'immunité active a fait l'objet d'une série de recherches :

M[lle] Fassin [3] a observé, après thyroïdectomie, une diminution de l'alexine hémolytique et bactéricide.

Marbé [4] a trouvé après thyroïdectomie une diminution des pouvoirs opsoniques et phagocytaires.

Frouin [5] a confirmé partiellement les faits relatifs à la diminution de l'alexine, mais il a vu, d'autre part, que les chiens éthyroïdés, immunisés contre la toxine tétanique, fournissent un sérum dont les propriétés antitoxiques sont plutôt supérieures à celles du sérum des animaux normaux pareillement traités.

G. Lerda et S. Diez [6] ont vu que les cobayes thyroïdectomisés résistaient aux intoxications (toxines tétanique et diphtérique, strychnine, caféine) à peu près aussi bien que les cobayes normaux.

Fjeldstad [7] n'a pas trouvé de différence appréciable dans le degré d'immunité et dans la rapidité de son développement chez les lapins thyroïdectomisés et les lapins normaux vaccinés avec le bacille d'Eberth.

Dans toutes ces recherches, il s'agit en somme de réactions artificiellement provoquées dans l'organisme par des agents microbiens ou toxiques qui ne réalisent pas une maladie déterminée comparable à celles qu'on observe en clinique. Dans nos expériences, au contraire, nous avons cherché dans quelle mesure les glandes thyroïdes intervenaient dans la

résistance à l'infection et la production de l'état d'immunité au cours d'une maladie bien caractérisée.

Nos expériences ont porté sur cinq poules, simplement éthyroïdées, ou éthyroïdées et partiellement paraéthyroïdées (1).

Voici les résultats obtenus :

Première série. — Poule I. 9 juin 1913, ablation des deux thyroïdes et d'un groupe parathyroïde à gauche. 13 juin, injection de 0 c.c. 5 de virus, relativement atténué. Le 16, très rares spirilles ; le 18, plus de spirilles. Signes cliniques habituels ; le 20, l'animal est complètement guéri. L'autopsie vérifie l'intervention.

Poule II, témoin. Infection le 13, avec 0,5 c.c. du même virus. Spirilles dans le sang les 16, 17 et 18. Donc, pendant vingt-quatre heures de plus que la poule I.

Deuxième série. — Poule III, 1 kilogr. 250. 11 juin, ablation des deux thyroïdes et du groupe parathyroïdien droit. Infection le 27, avec 0,2 c.c. de virus Argas (premier passage). Spirilles les 28, 29 et 30 juin. Suites normales. Survie. L'autopsie confirme l'ablation glandulaire (2).

Poule IV, 1 kil. 700. 21 juin, ablation des deux thyroïdes ; le 27, infection avec 0,2 c.c. de virus Argas. Spirilles du 28 juin au 2 juillet inclus. Survie. L'autopsie confirme l'intervention.

Poule V, témoin des deux précédentes, 27 juin, infection avec 0,2 c.c. du même virus. Spirilles du 29 juin au 1er juillet inclus. Survie.

Troisième série. — Poule IV. 26 juin, ablation des deux thyroïdes et du groupe parathyroïdien gauche. Le 27, injection de 0,5 c. c. de virus Argas. Quatre jours de septicémie. Survie. L'autopsie confirme l'exérèse.

Poule VII, témoin. Infection le 27, avec 0,5 c.c. de virus Argas. Cinq jours de septicémie. Mort le 2 juillet.

(1) *Le procédé opératoire, suivi pour l'ablation des thyroïdes chez la poule, a été décrit avec détails par l'un de nous* : L. Launoy, Thyroïdes, Parathyroïdes, Thymus, *Thèse d'agrégation*, J.-B. Baillière. Paris, 1914.

(2) Nous désignons sous le nom de « virus Argas » le virus obtenu chez une poule infectée au moyen du sang d'un animal auquel la maladie avait été transmise par des Argas spirillosés.

Quatrième série. — Poule VIII. 2 juillet, thyroïdectomie bilatérale. Le 5 juillet, 0,5 c.c. virus Argas. Trois jours de septicémie. Survie.

Poule IX. Normale, simulacre d'opération. Le 14 juillet, 0,5 c.c. virus Argas. Le 16 juillet, rares spirilles; le 17, très nombreux spirilles. Mort dans la soirée.

Ainsi, chez des animaux respectivement infectés de *spirochæta gallinarum* : un, quatre, six, seize jours après l'ablation des thyroïdes, avec ou sans parathyroïdectomie partielle, la résistance à l'infection n'a nullement été diminuée. Les trois poules éthyroïdées ont survécu, deux témoins sur quatre ont succombé.

La recherche du pouvoir immunisant du sérum après infection nous a montré que le sérum des poules éthyroïdées était aussi actif que celui des animaux témoins ayant survécu. Cette étude a été faite sur 8 poussins dont le poids variait entre 167 et 190 grammes.

Chez trois animaux pesant respectivement 167, 187 et 190 grammes, l'injection intraveineuse — faite vingt-quatre heures avant l'infection — de 0,5 c.c. du sérum de la poule III (éthyroïdée) a protégé d'une façon absolue contre l'infection avec 0,15 c.c. de virus Argas conservé 27 jours à la glacière.

Chez trois autres poussins de 167, 159 et 184 grammes, l'injection intraveineuse, préventive, de 0 c.c. 5 de sérum de la poule V (non éthyroïdée), a protégé intégralement dans deux cas contre l'infection par le même virus; dans le troisième cas, nous avons eu une septicémie très atténuée qui n'a duré que vingt-quatre heures.

Les deux autres animaux injectés avec 0,5 c.c. de sérum physiologique et 0,15 c.c. du même virus ont succombé tous deux au bout de 12 à 15 jours après guérison apparente de la spirillose et cachexie consécutive.

II. — ROLE DE LA RATE

Le rôle de la rate dans les maladies infectieuses a fait également l'objet d'une série de recherches dont les résultats sont contradictoires. Nous ne ferons que rappeler ici les expériences de Kourloff [8] sur la résistance des lapins *dératés* à diverses

infections (charbon, rouget du porc, choléra des poules, streptocoque). L'auteur conclut que « le rôle de la rate dans la lutte de l'organisme contre les parasites qui l'envahissent n'est nullement plus important que celui de tous les autres organes. C'est leur ensemble et non un organe ou un tissu quelconque qui lutte contre les envahisseurs ».

Au contraire, Bardach [9] trouve que le chien dératé résiste beaucoup moins au charbon que le chien normal.

Sur 25 chiens splénectomisés, 19 succombent à l'infection charbonneuse.

Sur 25 chiens témoins, splénectomisés, 5 seulement succombèrent.

Dans les maladies à protozoaires on a attribué à la rate un rôle particulièrement important dans la destruction des parasites.

Bradford et Plimmer [10] trouvent que les animaux dératés inoculés avec le *Trypanosoma Brucei* meurent plus vite que les témoins.

Sauerbeck [11] a vu que chez les rats et les chiens dératés, l'infection par le *Trypanosoma Brucei* évolue plus rapidement que chez les témoins.

Pour Rodet et Vallet [12] la rate aurait des propriétés trypanolytiques remarquables.

Laveran et Thiroux [13] ont fait des expériences sur des rats et des cobayes dératés inoculés avec le *Trypanosoma* du Surra. Ils trouvent que chez les animaux splénectomisés l'évolution de la trypanosomiase n'est pas sensiblement modifiée.

Le rôle de la rate au cours des infections spirillaires a fait l'objet de quelques travaux :

Soudakewitch [14] conclut de ses expériences sur le singe infecté avec le spirille d'Obermeyer que l'extirpation de la rate entrave l'apparition de la crise ; l'animal meurt en pleine infection, alors que les témoins survivent.

Tournade [15] a pu, par la splénectomie préalable, rendre le rat gris sensible à l'infection par le spirille de Dutton, alors que normalement cet animal est tout à fait réfractaire; mais l'infection ne se produit pas à coup sûr. L'auteur conclut en accordant à la rate contre l'infection spirillaire « un rôle protecteur certain, mais qu'elle ne détient pas exclusivement ».

Nos expériences ont porté sur des poules adultes splénectomisées; puis, quand elles étaient tout à fait remises de l'intervention (8 à 10 jours), infectées par le *Sp. gallinarum*. En même temps, on infectait des poules témoins normales ou bien ayant subi un simulacre d'opération.

La splénectomie est une opération délicate à effectuer chez la poule en raison de la situation profonde de l'organe; quand l'ablation est bien faite, l'exérèse de la rate n'entraîne aucune suite fâcheuse; ni troubles généraux, ni troubles locaux.

D'une manière générale, chez la poule dératée, l'évolution de la maladie suit son cours habituel. Aucun de nos animaux n'a succombé à la spirillose. Toutefois, chez les poules sans rate, l'allure de la septicémie est modifiée. Ainsi l'apparition des spirilles dans le sang s'observe plus tôt que chez la poule témoin. Au bout de vingt-quatre heures, quelquefois avant (18 à 20 heures), on trouve sur les lames quelques rares spirilles; chez le témoin, ceux-ci ne sont mis en évidence qu'après quarante-huit heures.

De plus, pendant la période de septicémie, l'abondance des spirilles est beaucoup plus grande chez l'animal splénectomisé. Ce phénomène est constant et très marqué. La crise, au lieu de se produire en un seul temps, comme chez les témoins, s'effectue en deux temps. D'abord une partie des spirilles s'agglutinent en gros amas; vingt-quatre heures après, les agglutinats sont disparus, mais on retrouve des spirilles libres. Ceux-ci disparaissent à leur tour, en quarante-huit heures habituellement. La septicémie dure, en définitive, plus longtemps chez l'animal sans rate que chez l'animal témoin; elle commence vingt-quatre heures plus tôt, et se termine vingt-quatre heures ou quarante-huit heures plus tard.

A cette septicémie d'une durée plus longue et d'une abondance plus considérable ne correspond pas une allure clinique aggravée. Bien au contraire, la diarrhée est aussi marquée que chez le témoin, mais les phénomènes d'intoxication : abattement, torpeur, parésie, sont beaucoup moins accusés; parfois même ils s'observent à peine. Il y a là, entre la poule dératée et son témoin, une différence frappante; nous l'avons notée chaque fois.

On peut, croyons-nous, expliquer ce fait paradoxal d'une septicémie plus forte et d'une évolution cliniquement atténuée, de la manière suivante. Habituellement, il se ferait au niveau de la rate une destruction considérable de spirilles; il y aurait donc mise en liberté, à dose massive, de substances toxiques qui réalisent le syndrome adynamique si caractéristique et si constant. Chez la poule dératée, cette destruction massive n'aurait plus lieu, d'où à la fois abondance plus grande de spirilles dans le sang et absence ou atténuation des phénomènes d'intoxication. Quand la destruction spirillaire se produit, celle-ci, plus lente, se fait au niveau d'organes (le foie en particulier) capables de retenir, vraisemblablement, la majeure partie des produits de désintégration spirillaire.

L'absence de rate n'empêche pas la production des anticorps spirillaires; l'état d'immunité s'établit comme chez la poule témoin, ainsi que nous l'avons constaté.

L'étude hématologique nous a montré, dans la spirillose de nos poules splénectomisées, les mêmes réactions sanguines que celles décrites par nous chez la poule normale spirillosée.

Tels sont les phénomènes que l'on constate au cours de la maladie et dans les jours qui suivent la crise. En prolongeant l'observation des animaux après guérison apparente, nous avons vu survenir dans un cas des phénomènes de cachexie dont l'interprétation nous a longtemps paru difficile. Il s'agissait d'une poule splénectomisée, puis spirillosée qui, un mois après la crise, se mit à maigrir rapidement. Cet amaigrissement s'accompagnait d'inappétence, de parésie, de perte des plumes, et aussi d'une leucocytose croissante qui atteignit 132.000 leucocytes. L'animal mourut au bout de quelques semaines de maladie et l'autopsie nous montra une tuberculose prédominant au niveau du foie, qui était très volumineux, criblé de tubercules où fourmillaient les bacilles. Cette infection tuberculeuse spontanée expliquait à la fois la cachexie post-spirillaire et l'état leucémique du sang.

Conclusions.

1° L'ablation préalable des glandes thyroïdes et de la rate n'entrave pas chez la poule adulte la résistance à l'infection spirillaire ni la production de l'état d'immunité.

2° Chez la poule éthyroïdée l'évolution de la spirillose n'est pas sensiblement modifiée.

3° Chez la poule dératée, la septicémie spirillaire est sensiblement plus forte que chez le témoin; par contre, l'allure clinique de la maladie est beaucoup plus bénigne et les phénomènes d'intoxication très peu marqués.

Juin 1914.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

[1] L. Launoy et M. Lévy-Bruhl. — *Annales de l'Institut Pasteur,* mai 1914.
[2] Marchoux et Salimbeni. — *Annales de l'Institut Pasteur.*
[3] Fassin (Mlle). — *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 20 avril 1907, p. 647.
[4] Marbé. — *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 20 juin 1908, p. 1113, et 26 juin 1909, p. 1073.
[5] Frouin. — *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 30 juillet 1910, p. 237.
[6] Lerda et S. Diez. — *R. Accad. Mèd. di Torino,* XI, 18 mars 1907.
[7] Fjeldstad. — *Amer. Journ. of Physiology,* vol. XXVI, p. 72, 1910.
[8] Kourloff. — Cité par Soudakewitch.
[9] Bardach. — Cité par Soudakewitch.
[10] Bradford et Plimmer. — *The quarterly journal of microscop. science,* février 1902, t. XLV.
[11] Sauerbeck. — *Zeitschrift f. Hygiene,* 1906, t. LII.
[12] Rodet et Vallet. — *Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* 28 mai 1906, et *Archives de médecine expérimentale,* juillet 1906.
[13] Laveran et Thiroux. — *Annales de l'Institut Pasteur,* août 1907, t. XXI, p. 593.
[14] Soudakewitch. — *Annales de l'Institut Pasteur,* t. V.
[15] Tournade. — *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1911.

SUR LA VIRULENCE DES BACILLES TUBERCULEUX

par Ét. BURNET

(Travail du Laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

Les observations qui suivent s'ajoutent à celles qui ont fait l'objet d'un premier mémoire, et se rapportent à la même question : le rôle des bacilles atténués dans la vaccination spontanée chez l'homme (1). Sous l'influence des recherches bactériologiques, les cliniciens commencent à abandonner l'ancienne notion simpliste du terrain, propice ou défavorable à la tuberculose ; ils accordent, avec raison, une vive attention aux phénomènes de réinfection, où le bacille s'implante sur un terrain déjà modifié ; et l'un des plus expérimentés en matière de tuberculose présentait, tout récemment, le « concept bactériologique » du terrain tuberculeux (2). Les bacilles atténués étant les plus aptes à modifier l'organisme en lui causant le moins de dommages, à la manière de vaccins naturels, il est important de connaître leur place dans la nature. On la connaît mal parce que les notions exactes ne peuvent être acquises qu'au prix d'observations minutieuses et longues. Ainsi, l'enquête de l'Office sanitaire allemand sur la virulence des bacilles bovins chez l'enfant, commencée depuis six ans environ, est encore loin d'être achevée.

Des bacilles atténués ont été trouvés dans l'organisme des animaux. N'en existe-t-il pas autour de nous dans le monde extérieur, et les enfants qui grandissent en acquérant une résistance certaine à la tuberculose, ne sont-ils pas ceux qui ont eu la chance de les rencontrer? Il faut donc les chercher dans le milieu extérieur. Il faut, d'autre part, les suivre dans les organismes, pour savoir dans quelles conditions peut se maintenir ou varier leur degré de virulence.

(1) Ces *Annales*, novembre 1912, t. XXVI, p. 868.
(2) F. Bezançon, *Journal de médecine interne*, 10 juin 1914.

C'est le cobaye qui a servi comme sujet ordinaire d'expérience. La virulence a été appréciée d'après la dose inoculée et l'état anatomique des cobayes autopsiés en séries, après un temps déterminé. Comme, après l'inoculation sous-cutanée, c'est le poumon qui forme le dernier les masses tuberculeuses visibles, l'extension de la tuberculose au poumon semble donner la mesure la moins incertaine de la rapidité de la maladie et de la virulence du bacille.

I

LES BACILLES TUBERCULEUX DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR

1° Bacilles recueillis dans les poussières.

Les hygiénistes ont bien souvent cherché le bacille tuberculeux dans la poussière des rues et des habitations, surtout à l'époque où l'on discutait la notion de l'ubiquité du bacille. La bibliographie de ces recherches remplirait des pages. Mais si l'on s'est beaucoup préoccupé de leur présence, on ne s'est pas souvent soucié de déterminer leur virulence.

Le bacille de Koch a été trouvé dans les poussières et balayures des rues (anciennes recherches de Manfredi, à Naples; de Marpmann, à Leipzig) et des locaux très fréquentés (Carlo Mazza, dans les cafés de Tunis), sur des fruits exposés aux étalages (Schnirer), dans la poussière recouvrant des objets militaires d'équipement (des ouvriers tuberculeux avaient travaillé dans le magasin, — Kirchner), dans les salles d'hôpital (Strauss, Le Noir et Camus), dans des livres, sur le corps des mouches (Nuttall, André, etc.), dans la poussière des salles d'Université (Heymann), sur des vêtements (Josephson, Nötel, Chaussé), etc. Après avoir constaté la présence du bacille, on a surtout étudié les conditions de conservation. (Voy. les mémoires de Lindemann, Flügge, Cornet, Kirstein, Heymann, Jousset, Küss, Chaussé, etc. [1].)

(1) On trouvera aisément l'indication des principaux travaux dans le travail de Cornet et Kossel (*Handbuch der path. Mikroorganismen*, de Kolle et v. Wassermann, 2e édit., t. V) et dans les récentes études publiées par Chaussé, dans la *Revue d'Hygiène et de Police sanitaire*, t. XXXV, 1913.

On trouve comme une quintessence des poussières atmosphériques dans ces poussières fines que l'on pompe par le vide (*Vacuum cleaner*); avec elles s'est déposé ce qu'il y a de plus léger dans ce que soulèvent nos semelles et l'intense circulation de nos rues, et ce que crache une population malheureusement trop insouciante. Les nettoyages par le vide, faits à intervalles assez éloignés, fournissent des poussières vieilles et sèches. Comme terme de comparaison, il est intéressant d'examiner des poussières relativement fraîches, ramassées en des endroits de grande circulation et que l'on balaie et nettoie tous les jours : planchers d'omnibus, de voitures, de wagons de métropolitain et autres trains, encoignures de portes, au bord des trottoirs.

Si l'on inocule directement les cobayes sous la peau avec ces poussières telles quelles, on risque de perdre la plupart des animaux avant qu'un ganglion ait eu le temps de se tuméfier.

L'antiformine permet d'inoculer des quantités beaucoup plus grandes avec des risques à peu près nuls. J'ai employé couramment l'antiformine à 10 pour 100 pendant 20-35 minutes, suivie de deux lavages-centrifugations à l'eau stérile. Ce traitement ne laisse guère survivre que les spores du *B. sporogenes* et de divers *Mesentericus*. Avec chaque échantillon ont été inoculés de 3 à 6 cobayes, qui ont été observés aussi longtemps que possible. Les résultats auraient évidemment une plus grande valeur si l'on inoculait des cobayes par centaines.

Sur 18 échantillons de poussières sèches de nettoyage par le vide, aucun n'a tuberculisé les cobayes.

Sur 18 échantillons de poussières fraîches, 3 ont donné la tuberculose, à savoir : 1° de la poussière prélevée sur les barreaux supérieurs d'une fenêtre d'un laboratoire, à 3 mètres environ au-dessus du sol; 2° et 3° de la poussière, mélangée de terre, prélevée entre les lattes du plancher de deux autobus différents.

Il est à remarquer que les poussières d'autobus m'ont donné un résultat positif dans 2 cas sur 7, ce qui n'est pas à traiter par le dédain; tandis que des échantillons prélevés très superficiellement au jardin du Luxembourg (allée où les enfants

jouent tous les jours par centaines), sur le plancher de plusieurs voitures du métropolitain, dans des encoignures de portes de maisons donnant sur un trottoir, n'ont rien donné.

Les prélèvements ont été faits au printemps de 1913 (voy. Note 1 ci-dessus).

Note 1. — INOCULATIONS DE POUSSIÈRES

PROVENANCE	NOMBRE de cobayes	DURÉE D'OBSERVATION	RÉSULTAT (tuberculose)
1° Poussières sèches.			
(*Seuls figurent les cobayes qui ont vécu longtemps.*)			
1. Maison de tailleur W. E.	0	6 semaines, 4 mois. 7 semaines, 5 mois. 5 mois.	—
2. Théâtre Montm...	3	3 pendant 6 mois.	—
3. Théâtre Monc...	4	6 et 7 mois. 5 semaines.	—
4. Théâtre B.-Par...	2	5 mois. 1 mois.	—
5. Théâtre Mic...	2	6 mois.	—
6. Théâtre App...	3	56, 77 et 132 jours.	—
7. Théâtre Réj...	3	66, 80 et 118 jours.	—
8. Cinéma Pig...	2	5 et 8 mois.	—
9. Appartement.	3	2, 5 et 8 mois.	—
10. Malmaison.	2	2 et 6 mois.	—
11. Appartement.	3	4, 4 mois et demi et 5 mois.	—
12. Façade d'un hôtel (M. X.)	2	2 mois.	—
13. Grand magasin H...	2	2 mois.	—
14. Grand magasin F...	2	45 et 60 jours.	—
15. Magasin rue P...	4	2, 5, 5 et 6 mois.	—
16. Salle des mariages, Mairie X...	2	2 mois.	—
17. Appartement.	4	de 6 semaines à 3 mois.	—
18. Appartement.	4	2 mois et demi.	—

PROVENANCE	NOMBRE de cobayes	DURÉE D'OBSERVATION	RÉSULTAT (tuberculose)
		2° Poussières fraîches.	
1. Jardin du Lux...	2	2 mois.	—
2. Id.	2	5 mois.	—
3. Laborat. Poussière non lavée à l'antifor.	2	L'un 6 mois, négatif; l'autre +.	+
4. Autobus.	2	L'un, tuberculeux; l'autre 2 mois et demi.	+
5. Métro.	2	4 mois et demi et 6 m. et demi.	—
6. Id.	2	4 mois et demi.	—
7. Id.	2	4 et 8 mois.	—
8. Id.	2	3 et 4 mois.	—
9. Autobus.	2	1 mois et 4 mois et demi.	—
10. Id	2	4 mois et demi.	—
11. Autobus.	2	5 et 8 semaines.	—
12. Id.	3	38, 44 et 50 jours.	—
13. Autobus, antiformine, 40 min.	3	3 tuberculeux.	+
14. Id.	4	42, 70 jours, et 5 mois.	—
15. Id.	4	10 à 14 semaines.	—
16. Id.	4	6 à 14 semaines.	—
17. Encoignure du trottoir P...	3	3 mois et demi.	—
18. Enc. du trottoir V...	2	38 et 105 jours.	—

Les 3 bacilles désignés se sont montrés d'une virulence au moins égale à ceux que l'on isole des crachats de tuberculoses en activité. Il n'est pas douteux que les bacilles des autobus proviennent de crachats fraîchement projetés sur le plancher, comme c'est trop souvent le cas à Paris. En somme, ces examens n'ont pas découvert de bacilles atténués. S'il en existe autour de nous, ils sont difficiles à trouver. Pour savoir comment les bacilles échappés d'un organisme sont impressionnés par les influences en jeu dans le monde extérieur, — oxygène, lumière, dessiccation, vieillissement, — il faut recourir à l'expérience.

2° Bacilles exposés au vieillissement sous la lumière diffuse.

L'expérience est très simple et reproduit les conditions naturelles où se trouvent des poussières exposées à la lumière diffuse, dans un coin d'appartement. Quoique étalée aussi mince que possible, sur le fond d'une boîte de Petri, la couche de poussière gardait toujours une certaine épaisseur : on l'agitait périodiquement pour faire passer tous les bacilles, autant que possible, au contact de l'air et de la lumière. L'expérience a duré jusqu'ici dix mois.

A 2 grammes de fine poussière (de nettoyage par le vide) stérilisée, on mêle 100 milligrammes de bacilles tuberculeux, mis en suspension dans l'eau physiologique; le tout est divisé en deux parties égales, mises chacune dans une boîte de Petri et desséchées, l'une à l'étuve, l'autre sous la cloche à vide. A partir de ce moment, l'une des boîtes a toujours été tenue sous la cloche à vide, au-dessus de l'acide sulfurique; l'autre à l'air du laboratoire. Les deux lots étaient toujours placés au même endroit de la même table, avec la même exposition; le soleil n'a donné sur eux qu'à de très rares exceptions; c'est la lumière diffuse qui a agi, à travers la paroi de la cloche.

Au début, croyant à une atténuation ou même à une destruction rapide des bacilles, on inoculait au cobaye de sept en sept jours. Comme la résistance a été longue, les inoculations ont, dans la suite, été faites de mois en mois. Pour chaque cobaye était mise en suspension une quantité de poussière correspondant au quart ou au huitième de milligramme de bacilles : dose très forte. Les irrégularités, inévitables, se compensent, parce que l'expérience a été prolongée longtemps avec des cobayes nombreux. Inoculations sous la peau du ventre.

Vitalité et virulence ont baissé très lentement. A peine a-t-on noté, pendant les trois premiers mois, un retard dans le développement des ganglions inguinaux et dans l'extension des lésions : les bacilles exposés à l'air retardent sur les bacilles maintenus dans le vide, et les bacilles maintenus dans le vide retardent sur les bacilles de la culture. A la neuvième inoculation (trois mois et demi), la baisse de virulence s'accuse, la tuberculose évolue lentement; chez bon nombre de cobayes on note un phénomène qui deviendra de plus en plus fréquent et à peu près général, *l'absence de chancre*, laquelle, avec les bacilles normaux, ne s'observe (et pas toujours) que si la dose est minime, inférieure au millième de milligramme. A la même

date, les bacilles conservés dans le vide sont plus virulents que les bacilles exposés à l'air : la différence est très nette.

Après quatre mois et demi, les cobayes inoculés avec les bacilles gardés à l'air n'ont, au bout de huit semaines, que de petits ganglions inguinaux, sans lésions viscérales. Dans la onzième série (cinq mois), par suite d'un hasard dans la distribution des bacilles, l'inoculation accuse une plus grande virulence que dans la précédente. Dans la douzième série, les cobayes n'ont, après deux mois et demi, qu'un ganglion minuscule, dans le cas des bacilles à l'air; mais les bacilles maintenus dans le vide, quoique moins actifs que les bacilles normaux, donnent à ce moment une tuberculose nette.

A quoi tient la diminution d'activité des bacilles exposés à l'air et à la lumière diffuse? Ou bien tous subissent un affaiblissement uniforme; ou bien il se fait une sélection, d'après la vigueur individuelle des bacilles et la façon dont la lumière les a touchés. L'expérience suivante, sans être absolument concluante (puisque l'organisme du cobaye peut modifier les bacilles), est en faveur de la seconde interprétation : au moment où la virulence commence à baisser (quatrième mois), on isole le bacille des ganglions des cobayes et, avec la culture obtenue, on inocule une série : la tuberculose évolue comme avec les bacilles normaux originels.

En résumé : 1° chez la majorité des cobayes inoculés, les bacilles affaiblis ne produisent pas de chancre; 2° les bacilles maintenus dans le vide conservent beaucoup mieux leur virulence que les bacilles maintenus dans l'air; 3° les bacilles tuberculeux, mêlés à de la fine poussière, exposés à la lumière diffuse et agités fréquemment, conservent longtemps leur virulence; la conservation s'évalue non en jours, mais en mois.

Ces dernières conclusions paraissent contraires à l'opinion courante, fondée sur de nombreuses expériences. Il est admis que les bacilles secs se conservent plus longtemps que les bacilles humides; or les bacilles exposés à l'air, bien qu'ayant subi une première dessiccation, étaient plus exposés à la vapeur d'eau de l'atmosphère que les bacilles de la cloche à vide, et ils ont perdu plus vite leur virulence. Sans doute il faut tenir compte d'un autre élément : l'oxygène de l'air.

La longue survivance des bacilles tient à ce que la poussière

fine leur fournissait un bon abri. Dans les appartements, surtout dans les taudis privés de soleil et même de lumière diffuse, les bacilles doivent se conserver très longtemps vivants et virulents. Ce qui stérilise, c'est la grande lumière du jour et, surtout, l'insolation directe. La réforme de l'habitation est bien un point essentiel de la lutte contre la tuberculose.

Les recherches sur la présence et la durée de conservation des bacilles dans le milieu extérieur sont extrêmement nombreuses; elles se rattachent aux anciennes expériences de Koch : « Les bacilles tuberculeux, *suivant l'épaisseur de la couche exposée au soleil*, sont détruits au bout de quelques minutes ou de quelques heures;... la lumière diffuse peut aussi, quoique plus lentement, exercer la même action, car les bacilles meurent en cinq à sept jours, quand on les expose immédiatement à la fenêtre (1). » Les expérimentateurs donnent des chiffres très divers, et tous doivent avoir raison : le résultat dépend des conditions d'expérience, de la façon dont les bacilles sont exposés, prélevés dans une culture ou laissés dans des crachats, protégés ou nus.

J'ai répété l'expérience classique des bacilles mis en suspension dans l'eau et étalés en couche très mince sur une lame de verre, rapidement séchés à l'étuve et exposés à la lumière diffuse : après six jours et à la dose de 0,1 milligramme, ils n'ont rien donné au cobaye. (Même bacille que dans l'expérience sur les poussières.)

L'atténuation des bacilles exposés à la lumière du soleil a été observée par Magneco (2); l'insolation, selon lui, ne modifie pas la virulence, quand elle ne dure pas plus de deux heures; à partir de trois heures, l'atténuation augmente progressivement avec la durée de l'exposition. Chaussé (3), sur des bacilles desséchés dans les conditions de l'appartement, a mis l'atténuation en évidence, d'une façon ingénieuse, en comparant les effets des mêmes bacilles, administrés par inoculation sous-cutanée et par inhalation. Le même virus, actif par inoculation après dix, vingt, trente jours d'exposition à la lumière diffuse, s'est montré inoffensif par inhalation (chez le cobaye), à partir

(1) *Congrès de médecine interne*. Berlin, 1890.
(2) *Ann. d'Ig. sperim.*, 1895, t. V, p. 215.
(3) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLV, p. 486, 26 août 1912.

du dixième jour au plus et à dose plus considérable. A partir du moment de l'innocuité par inhalation, le bacille donne par inoculation des tuberculoses de plus en plus atténuées, jusqu'à la perte complète de la virulence.

D'après tous ces faits, il n'est pas douteux qu'il y ait dans le milieu extérieur des bacilles atténués, et que l'enfant en rencontre à l'âge où il commence à marcher, en touchant à tous les objets; il n'est pas douteux que l'infection première varie, non seulement en quantité, mais en qualité. Ce sont là les éléments de la vaccination spontanée de l'homme.

II

LES BACILLES TUBERCULEUX DANS L'ORGANISME

1° Bacilles atténués dans les tuberculoses cutanées.

Sur les 14 bacilles, isolés de tuberculoses cutanées (parmi lesquelles ne figurent pas les lésions de peau produites par une lésion osseuse ou ganglionnaire sous-jacente), que j'ai éprouvés sur cobaye. 4 ont paru nettement atténués. Sur 4 lupus, 2 ont donné des bacilles atténués.

Bacilles non atténués :

1. Gomme du bras.
2. Lupus d'adulte.
3. Lupus d'adulte.
4. Gomme de la joue, fillette de deux ans et demi.
5. Gomme du mollet (fillette de sept ans).
6. Tuberculose cutanée de la jambe (garçon de treize ans et demi).
7. Lésion cutanée du genou (garçon de dix ans).
8. Ulcère atypique de la peau (femme de dix-sept ans).
9. Ulcération tuberculeuse de la cuisse (femme de vingt ans).
10. Tubercul. verruqueuse (adulte).

Bacilles atténués :

1. Tuberculose cutanée de la jambe chez un homme de dix-neuf ans (Z).
2. Lupus (adulte).
3. Lupus de la joue chez une femme de vingt ans.
4. Lésion cutanée de la tempe chez un homme de vingt-sept ans (tuberculeux depuis l'âge de huit ans).

Ces 4 bacilles sont du type humain.

Les bacilles atténués se rencontrent surtout dans les lésions tuberculeuses de la peau. C'est aussi la conviction de Stanley

Griffith, qui a fait une étude très complète des bacilles isolés des lupus (1). Dans aucune autre forme de la tuberculose chez l'homme, dit-il, on ne trouve une telle diversité de virulences et une aussi grande fréquence de bacilles atténués, tant du type bovin que du type humain. Des vingt-cinq cas de lupus qui font le sujet de son plus récent mémoire, Stanley Griffith a cultivé 25 bacilles, dont 12 bovins et 13 humains; sur les 12 bovins, 9 atténués, et 10 sur les 13 humains (plusieurs degrés d'atténuation).

Les bacilles sont-ils atténués par le fait de leur séjour dans la peau, ou l'étaient-ils avant d'y pénétrer? Stanley-Griffith a cherché à déterminer l'ancienneté de ses cas, afin de mettre en parallèle le degré d'atténuation et la durée du séjour dans la peau. Pas de rapport entre l'ancienneté et l'atténuation pour les bacilles du type bovin; pour les bacilles du type humain, une certaine correspondance : 3 bacilles de virulence normale provenaient de cas récents et les 3 bacilles les plus atténués provenaient des cas les plus anciens; mais il y a des exceptions, l'un des bacilles atténués provenant d'un lupus de six mois. L'auteur annonce des observations plus étendues sur le même sujet. Rappelons l'opinion de Lindemann (2), d'après laquelle la peau de l'homme atténuerait les bacilles bovins et non les bacilles humains.

Il ne manque pas d'observations qui montrent qu'un bacille peut séjourner des années dans l'organisme sans perdre sa virulence. Sur l'action qui peut appartenir en propre à la peau, on n'a pas de renseignements exacts. On ne peut pas négliger le terrain, c'est-à-dire l'organisme que des infections antérieures doivent avoir modifié. L'atténuation serait un effet d' « allergie ».

2° La tuberculine des bacilles atténués

La production de tuberculine est un caractère essentiel du bacille tuberculeux. Un bacille acido-résistant qui n'en produit pas n'est pas classé comme tuberculeux. On sait que le bacille

(1) *Journal of Pathology and Bacteriology*, t. XVIII, f. 4, p. 591.
(2) *Berliner klin. Woch.*, 17 juin 1912, p. 1185.

aviaire produit une tuberculine qui agit faiblement sur les cobayes tuberculeux. D'après les observations suivantes, les bacilles atténués donnent une tuberculine normale.

On prépare dans des conditions identiques (milieu, vase, étuve, temps) de la tuberculine brute avec le bacille atténué Z et avec un bacille bovin, connu comme excellent producteur d'une tuberculine active. L'essai est fait aux mêmes doses, sur des cobayes appareillés aussi exactement que possible (bacille tuberculeux, mode et date d'inoculation, résistance, poids). La tuberculine du bacille atténué a causé une réaction thermique en général plus faible; mais elle a tué les cobayes à peu près dans la même proportion que l'autre tuberculine (Voy. Note 2).

J'ai répété la comparaison, en faisant la cutiréaction sur moi-même, avec plusieurs tuberculines (liquide du milieu minéral de Sauton, chauffé trois quarts d'heure à 100 degrés, après six semaines de culture). Les inoculations ont été faites sur le même bras avec la tuberculine du même bacille bovin et des bacilles atténués 1, 3 et 4. Des réactions antérieures avaient prouvé la sensibilité. Les tuberculines de bacilles atténués n'ont pas été moins actives que l'autre; au contraire, la réaction (étendue et épaisseur de l'œdème) était plus marquée avec deux des bacilles atténués; la différence correspondait à une plus grande luxuriance de la culture de ces deux bacilles.

Mêmes résultats en faisant ces cutiréactions sur un même cobaye tuberculeux à peau fine et blanche.

3° Passage d'un bacille atténué sur cobayes et sur singes.

Par passage sur cobayes avec alternances de cultures, le bacille atténué Z est resté peu pathogène, et a plutôt continué à baisser. Un séjour de soixante-douze jours chez un lapin ne l'a pas modifié pour le cobaye. Les passages sur singes ont relevé la virulence pour le cobaye.

1. Premier séjour de neuf mois chez un *Rhesus*; la culture, à partir de ce rhesus, s'est montrée plus virulente pour les cobayes. Puis le bacille est redescendu à sa faible virulence pour cobaye.

2. *Cynocéphale* 243 reçoit du 7 avril au 20 octobre 1913, par ingestion, en 25 fois, par doses variant de 0,1 à 1 milligramme, en tout 9 milligrammes de culture pure du même bacille Z. Il meurt le 4 novembre avec une grosse tuberculose des ganglions mésentériques et trachéo-bronchiques, et une tuberculose discrète, abondante, des poumons.

Note 2. — COMPARAISO

Tuberculine Z.

COBAYES	DOSE de tuberculine brute	TEMPÉRATURE avant	après 3 heures	après 5 heures	après 6 heures	RÉSULTATS ET AUTOPSIE
1	0,5 c.c.	38,9	39,1	39,2	38,7	Survit. Très peu de tuberculose, sauf u gr ganglion inguinal.
2	0,25	39,3	40 »	mort	»	Plus maigre que le cobaye ci-contre.
3	0,25	39,4	40,2	38,2	36,4	Mort dans la nuit.
4	0,25	39 »	40,2	40,4	Ont survécu	Tuberculose, rate et ganglions.
5	1/8	38,2	39 »	38,3		Pas de tuberculose viscérale.
6	1/8	39,3	41 »	40,4		
7	0,1	39,7	41,3	40,4	»	Mort dans la nuit. Gros ganglions trach ux inguinaux. Grosse rate très tuberculeuse. ab culose discrète des poumons.

Les animaux mis en face l'un de l'autre, avec les mêmes n

Avec la *matière caséeuse* d'un de ses ganglions mésentériques, sont inoculés des cobayes qui ont, au bout de quarante jours : tuberculose pulmonaire abondante; grande ulcération purulente au point d'inoculation.

Du même ganglion du cynocéphale a été obtenue une culture pure. La *première culture* est inoculée sous la peau de cobayes, à la dose de 1/4 de milligramme. Au bout de quarante jours, tuberculose pulmonaire assez étendue, surtout chez l'un des cobayes, qui a au moins 200 tubercules dans ses poumons : ce que n'avait jamais donné le bacille primitif.

La *seconde culture* est inoculée à la même dose et donne en quarante jours de la tuberculose pulmonaire; une particularité qui n'a été vue que dans cette série : les cobayes avaient tous sur leur chancre une croûte grosse; grise, sèche, écailleuse, surélevée en cône de 6 à 7 millimètres, semblable à une culture de teigne.

Cette même culture a été donnée par ingestion, à haute dose (6 milligrammes en deux fois, à 2 jours d'intervalle) au *Rhesus* 272, qui est mort le cinquantième jour, avec de petits ganglions mésentériques caséeux, de petits ganglions trachéo-bronchiques caséeux et un gros bloc de pneumonie tuberculeuse dans le poumon droit, contenant une multitude innombrable de bacilles. Un petit morceau de cette pneumonie est broyé dans de l'eau physiologique, et la suspension (liquide surnageant) inoculée à des cobayes à la dose de 1/3 de centimètre cube. (Une goutte sur lame montrait une trentaine de bacilles par champ de microscope.) Après quarante-cinq jours, les

…RCULINES, SUR COBAYES.

Tuberculine du bacille bovin.

DOSE de …erculine brute	TEMPÉRATURE avant	après 3 heures	après 5 heures	après 6 heures	RÉSULTATS ET AUTOPSIE
0,5 c.c.	39 »	40,5	40,2	39,2	Mort le lendemain. Tuberculose discrète poumon et rate.
0,25	38,9	40 »	40,5	39,9	A survécu.
0,25	39,2	40,8	»	»	A survécu. Lésions cependant un peu plus étendues que chez le cobaye ci-contre.
0,25	39,1	40,5	40,3	Ont survécu	Peu de tuberculose viscérale.
1/8	38,2	39,8	40,3	Ont survécu	Tuberculose plus étendue que chez le témoin.
1/8	39 »	39,8	40,4	Ont survécu	»

…xactement le même âge de la même tuberculose.

cobayes ont eu de la tuberculose pulmonaire, sans parler des ganglions caséeux et de la rate très tuberculeuse (1).

D'après les expériences de Stanley Griffith, lorsqu'on éprouve comparativement la virulence d'un bacille sur les espèces lapin, veau, chèvre, cobaye et singe, les résultats sont concordants; en tenant compte de la sensibilité des espèces, un bacille atténué pour l'une l'est aussi pour l'autre.

Le bacille Z est relativement atténué pour les cynocéphales et les rhesus, comme il l'est pour les cobayes, mais les singes sont toujours beaucoup plus sensibles. Ils ne font pas de cuti-réactions, ce qui est un signe de moindre résistance. Les passages équivalent à des passages par espèce plus sensible, rele-

(1) Une tuberculose spontanée, à bacille pleinement virulent, est-elle intervenue dans cette expérience? On ne peut l'exclure d'une façon absolue; mais elle est très invraisemblable chez des cynocéphales soigneusement isolés.

vant le bacille pour une autre espèce moins sensible, ce qui est conforme aux idées pastoriennes sur la virulence des bactéries.

En médecine, on n'a guère à envisager que les passages sur l'homme. Nous n'avons pas de données sur ce que peut être un bacille humain repris par l'homme après un détour sur une espèce animale, par exemple le chien ou le chat.

4° Action des rayons X.

Que deviennent les bacilles tuberculeux qui sont soumis, *dans l'organisme*, à l'action de ces rayons, aujourd'hui si souvent employés? Une expérience, faite avec le Dr Mahar, sur cobayes inoculés dans l'épaisseur de la peau et exposés aux rayons, n'a pas abouti à une atténuation.

Un cobaye reçoit par inoculation intradermique 1/200 milligramme de bacilles bovins. Le surlendemain, première irradiation; après intervalle de 7 jours, deuxième irradiation (peau à 15 centimètres de l'anticathode; 10 minutes; appareil employé pour le traitement des tuberculoses cutanées et ganglionnaires). Une petite papule s'est développée, à partir du 8e jour, chez le cobaye irradié comme chez les témoins; elle est plus rouge, d'aspect plus enflammé chez le cobaye irradié.

On l'excise le 16e jour et on la réinocule sous la peau de cobayes neufs qui prennent une tuberculose ni plus ni moins rapide que les cobayes inoculés de la même manière avec la papule analogue d'un cobaye non irradié.

Un autre cobaye, inoculé de même dans la peau, est soumis à 4 irradiations, à intervalles de 7 jours. Le 44e jour, on excise la papule: la plaie ainsi faite d'un coup de ciseaux guérit *parfaitement*, tandis que le cobaye succombe à la tuberculose généralisée. De la papule on inocule séparément, à des cobayes neufs, la croûte sèche et la base dermique. Le tissu dermique donne une tuberculose rapide (généralisée dès le 45e jour); dans le même temps, la croûte a donné une tuberculose plus lente. A cause de l'incertitude sur les quantités de bacilles, on ne peut conclure à une atténuation des bacilles renfermés dans la croûte.

Il est facile de prélever les bacilles sur un sujet humain avant le traitement par les rayons, mais difficile d'en prélever après, lorsque les rayons ont amené la guérison superficielle.

Une fille de quatorze ans, de très bonne santé générale, est traitée pour une adénite sous-maxillaire propagée à la peau. Deux prélèvements tout à fait superficiels ont été faits, l'un avant, l'autre après deux irradiations (huit jours après la

deuxième), et on a obtenu sur cobayes les deux cultures correspondantes. Elles ont accusé la même virulence.

Une culture de virulence normale a été obtenue avec des croûtes d'une lésion tuberculeuse de la malléole externe d'une jambe, chez une fille de sept ans et demi, après application de courants à haute fréquence et 3 irradiations. Le bacille obtenu n'était pas atténué, mais il n'a pu être comparé avec le bacille primitif.

Ces observations, faites en commun avec le Dr Mahar, ne suffisent pas à déterminer le mode d'action des rayons; elles indiquent que les bacilles n'ont pas été dans les tissus l'objet d'une destruction rapide.

Conclusions

1. Dans le milieu extérieur, le bacille tuberculeux n'a pu être isolé de 18 échantillons de poussières sèches (nettoyage par le vide). Il a été isolé de 3 échantillons (sur 18) de poussières fraîches; 2 de ces bacilles proviennent de poussières terreuses ramassées sur des planchers d'omnibus, et sans doute fraîchement souillées de crachats.

Ces 3 bacilles ont été reconnus très virulents.

2. Des bacilles tuberculeux pris dans une culture, mêlés à de la poussière fine (stérilisée) placée en couche mince dans une boîte en verre, exposés au vieillissement à la lumière diffuse, dans des conditions pareilles aux conditions naturelles (appartements), n'ont perdu de leur virulence qu'au bout de huit mois.

3. Au début du déclin de la virulence, on a isolé de la tuberculose lente des cobayes inoculés un bacille pleinement virulent.

4. Il se fait des bacilles atténués dans le monde extérieur, bien qu'on n'en ait pas encore isolé.

5. Dans l'organisme les bacilles atténués se trouvent surtout dans les tuberculoses cutanées, en particulier dans les lupus.

6. Il y a un élément inconnu dans la provenance des bacilles de ces lésions : l'état de l'organisme, que des infections antérieures ont modifié.

7. La tuberculine de plusieurs bacilles atténués s'est mon-

trée aussi active que la tuberculine active d'un bacille bovin très virulent.

8. Un bacille atténué ne se renforce pas pour le cobaye par passages sur cobayes. Les passages sur singes ont relevé la virulence pour le cobaye.

9. Des bacilles inoculés dans la peau du cobaye, et soumis aux rayons X, n'ont pas subi d'atténuation pendant la courte durée de l'expérience. Des bacilles cultivés à partir de lésions cutanées superficielles ont montré la même virulence avant et après les irradiations.

7 Juillet 1914.

ÉTUDES SUR LA RICINE

V. — SUR LE SORT DE LA RICINE (TOXINE ET AGGLUTININE) PENDANT LA GERMINATION DES GRAINES DE RICIN

par H. AGULHON.

On ne sait rien, pour ainsi dire, sur le sort de la ricine pendant la germination des graines de ricin. D'après G. Cruz (1), la germination ne détruit pas la toxine : la macération de 6 jeunes tiges de 7 jours tue le cobaye en 5 jours (injection sous-cutanée). Or, à notre connaissance, on n'a pas signalé l'existence de la ricine dans le ricin adulte. Au bout de 7 jours, la germination n'est qu'à son début, l'albumen est encore gonflé de réserves; rien ne prouve que la toxine ne disparaît pas à un stade plus avancé.

La ricine (toxine et agglutinine) est-elle détruite pendant la germination? A quelle époque disparaît-elle? Passe-t-elle de l'albumen dans la plantule? Autant de questions qui restaient sans réponse et dont nous avons entrepris systématiquement l'étude.

Nos expériences se classent en deux séries :

Dans la première, nous avons étudié les propriétés toxiques et agglutinantes des précipités alcooliques obtenus à partir : d'abord, de plantes entières; puis, séparément, des albumens et des plantules.

1° ÉTUDE DES PRÉCIPITÉS ALCOOLIQUES

I. — Plantes entières.

Les graines sont mises à germer sur de la sciure de bois humide, d'abord à l'étuve à 35 degrés pendant 3 jours, puis à

(1) *Annales d'Hygiène publique*, 3e série, t. XL, p. 350, 1898.

la température de la chambre (expériences faites en été). Après des temps variés, 9, 14 et 30 jours, on récolte 20 jeunes plantes (albumen compris); on les broie au mortier et on les fait macérer pendant 18 heures dans une quantité d'eau suffisante pour amener le volume total à 200 cent. cubes; on filtre, on précipite, par 3 volumes d'alcool à 96 degrés, un égal volume du filtrat de chaque essai (170 cent. cubes) et on centrifuge. Le précipité est repris par l'eau; on centrifuge pour séparer la portion insoluble et la solution est précipitée par l'alcool (3 volumes); on centrifuge à nouveau et le précipité est séché dans le vide. Pour la seconde précipitation, on est obligé d'ajouter au liquide un peu de chlorure de sodium; sans cette précaution, la précipitation est très lente et souvent incomplète.

Les précipités secs obtenus pèsent :

Pour 20 graines non germées, décortiquées . . .	0,180 gr.
Pour 20 plantes de 9 jours	0,100 gr.
Pour 20 plantes de 14 jours	0,070 gr.
Pour 20 plantes de 30 jours	0,090 gr.

Ces différentes préparations sont mises en solution dans l'eau physiologique, à raison de 0 gr. 01 par centimètre cube. On titre, d'une part, la toxicité de ces solutions; d'autre part, leur pouvoir agglutinant.

Comme animaux d'expérience, nous employons le cobaye mâle de 400 à 500 grammes et la souris de 20 grammes; des dilutions successives dans l'eau physiologique nous permettent d'injecter, sous le volume de 1 cent. cube, des doses de plus en plus faibles de toxine. Les animaux sont observés pendant une semaine; on note la lésion locale, pour ceux qui vivent encore après ce temps.

Pour l'étude de l'agglutinine, nous nous servons d'hématies de lapin lavées, en suspension à 5 p. 100 dans l'eau physiologique. A 1 cent. cube de cette suspension d'hématies, nous ajoutons 1 cent. cube des dilutions successives des préparations; on note le résultat après 24 heures à température ordinaire. (Ces méthodes expérimentales seront celles suivies dans tout le cours de ce travail.)

Les résultats obtenus dans cette première série d'essais sont exprimés dans les tableaux suivants :

Tableau A. — **Toxicité.**

POIDS DE PRÉCIPITÉ injecté.		GRAINES (1)	PLANTES de 9 jours.	PLANTES de 14 jours.	PLANTES de 30 jours.
10mgr	Cobaye.	....	Mort en moins de 1 jour.	Mort en 1 jour.	Très petite eschare.
	Souris.	....	....	....	Petite eschare.
1mgr	Cobaye.	Mort en 1 j. à 1 jour 1/2.	Mort en 1 jour.	Mort en 3 j. 1/2.	Rien.
	Souris.	....	....	....	Très petite eschare.
0,1mgr	Cobaye.	Mort en 2 j. à 2 j. 1/2.	Mort en 2 jours.	Eschare.	Rien.
	Souris.	Mort en 1 j.	....	....	Rien.
0,01mgr	Cobaye.	Eschare.	Eschare.	Très petite eschare.	
	Souris.	Mort en 2 j. à 3 j.			

(1) Deux expériences.

Tableau B. — **Agglutination.**

POIDS de précipité.	GRAINES	PLANTES de 9 jours.	PLANTES de 14 jours.	PLANTES de 30 jours.
10mgr »	Totale.	Totale.	Totale.	Incomplète.
1mgr »	Totale.	Totale.	0	0
0,1mgr	Totale.	Incomplète.	0	0
0,01mgr	Incomplète.	0	0	0

L'examen des tableaux A et B montre que *la ricine (toxine et agglutinine) disparaît progressivement pendant la germination.* Au 9e jour, la toxine n'a pas sensiblement diminué, mais l'agglutinine est déjà moins active. Après 14 jours, la toxicité et le pouvoir agglutinant des précipités alcooliques se trouvent très abaissés. Le 30e jour, il n'y a pratiquement plus de ricine dans la plante. A cette époque l'albumen est desséché et tombe.

Si nous tenons compte, d'une part, du poids de substance

obtenu dans nos diverses préparations; d'autre part, de leur activité, en prenant comme unité toxique la dose qui tue le cobaye en 2 à 3 jours, et comme unité agglutinante la plus petite dose agglutinant totalement 1 cent. cube d'hématies de lapin en 24 heures, on peut résumer de la façon suivante les résultats obtenus :

Les 20 graines ou jeunes plantes traitées dans chaque opération renfermaient :

Graines non germées.	1.800 unités toxiques.	1.800 unités agglutinantes.
Plantes de 9 jours. .	1.000 —	100 —
Plantes de 14 jours. .	70 —	7 —
Plantes de 30 jours. .	moins de 1 unité.	moins de 1 unité.

La disparition de l'activité apparaît de la sorte très nettement; on constate que *l'agglutinine disparaît proportionnellement plus vite que la toxine*; Müller (1), traitant des préparations de ricine par la pepsine chlorhydrique, a vu disparaître l'agglutinine alors que la toxine subsistait; la disparition plus rapide de l'agglutinine dans le phénomène de la germination peut être rapprochée du fait observé par Müller.

II. — Préparations séparées des plantules et des albumens.

Dans la série d'essais que nous venons d'exposer, les jeunes plantes étaient traitées en entier, plantule non séparée de l'albumen; la disparition de la ricine coïncidait avec le flétrissement de l'albumen. Il y avait lieu de rechercher si la ricine restait localisée dams l'albumen ou si elle passait dans la plantule pendant la digestion des réserves. La question est résolue par les expériences suivantes :

Des graines sont mises à germer dans la sciure à 30 degrés; après 9 et 16 jours, on sépare les albumens des plantules; on les broie et on les traite à part, comme dans les essais sur les plantes entières.

Les précipités alcooliques obtenus sont mis en solution dans l'eau physiologique à raison de 1 centigramme par centimètre cube, et on titre leur toxicité et leur pouvoir agglutinant.

(1) *Arch. f. experim. Pathol. und Pharmak.*, 1898, t. LI, p. 439.

POIDS de précipité sec employé.	PLANTES DE 9 JOURS				PLANTES DE 46 JOURS			
	ALBUMENS		PLANTULES		ALBUMENS		PLANTULES	
	Cobaye.	Aggl.	Cobaye.	Aggl.	Souris.	Aggl.	Souris.	Aggl.
10mgr	Mort en 1 jour	Totale	Eschare	Incomp.	»	Trace	Petite eschare	Trace
1mgr	Mort en 1 j. 1/2	Totale	Eschare	Trace	Mort en 2 j. 1/2	0	0	0
0,1mgr	Eschare	Incomp.	0	0	Petite eschare	0	0	0
0,01mgr	0	0	0	0	0	0	0	0

On constate que *la ricine reste localisée en majeure partie dans l'albumen*; *on n'en trouve qu'une très faible quantité dans la plantule pendant la germination*; comme elle s'atténue peu à peu dans l'albumen, on a l'impression qu'au fur et à mesure qu'elle pénètre dans la plantule, elle y est détruite par un processus particulier, sur lequel nous ne savons encore rien de précis. Ce ne semble pas être une digestion par une diastase « ordinaire »; en effet, nous avons préparé un mélange d'une petite quantité de ricine et d'une préparation de plantules (précipité alcoolique); après filtration à la bougie et répartition dans des tubes stériles, nous avons titré la toxicité du mélange, puis nous l'avons abandonné, pendant plus d'un mois, à l'étuve à 35 degrés; en titrant le mélange toutes les semaines, nous n'avons observé aucune atténuation de sa toxicité.

2° ÉTUDE DES MACÉRATIONS DE PLANTULES ET D'ALBUMENS

Les macérations de graines sont obtenues par broyage en présence d'eau physiologique ; après quelque temps de contact, on filtre sur filtre humide. Dans ces conditions, on obtient un liquide clair très actif. La même méthode est suivie pour les albumens des graines germées. Pour obtenir les macérations de plantules, on broie celles-ci avec de l'eau physiologique, on exprime dans un linge et on centrifuge.

Les faits énoncés dans la première partie de ce travail se trouvent confirmés dans cette seconde série d'expériences; mais avec les macérations, les phénomènes sont plus compliqués qu'avec les précipités alcooliques, comme d'ailleurs on pouvait le penser *a priori* étant donnée la complexité de composition chimique que peut avoir un extrait aqueux de plante. A un certain moment de la germination, nous avons pu observer l'apparition dans les macérations :

1° d'une hémolysine qui accompagne l'agglutinine à la fois dans l'albumen et dans la plantule ;

2° d'une substance toxique pour la souris, résistante à l'ébullition, non précipitable par l'alcool.

Afin de pouvoir mieux étudier ces faits, nous considérerons séparément l'action sur les hématies et l'action toxique sur les animaux que nous avions rapprochées dans la première partie du travail.

I. — Action sur les hématies.

Les hématies employées sont des hématies de lapin lavées, en suspension à 5 p. 100 dans l'eau physiologique. On ajoute à 1 cent. cube de cette suspension des quantités variées de macérations amenées au volume constant de 1 cent. cube, par des dilutions successives dans l'eau physiologique.

Dans une première série d'essais nous avons préparé les macérations de plantules provenant de germinations à l'étuve à 30 degrés après 5, 12 et 24 jours. Une plantule correspond à environ 2 cent. cubes de macération centrifugée. Voici les résultats observés après 24 heures :

VOLUME de macération.	PLANTULES DE		
	5 jours.	12 jours.	24 jours
1 c. c.	Hémolyse totale.	Hémolyse totale.	Agglutination incomplète.
0,1 c. c.	Hémolyse incomplète.	Hémolyse légère et agglut. incompl.	Trace d'agglutination.

Ainsi, alors qu'au départ on observe seulement dans la graine de ricin la présence d'une agglutinine, nous voyons apparaître à côté de celle-ci, après quelque temps de germination, une hémolysine dans la plantule; la présence de cette hémolysine s'observe pendant un certain temps, puis elle disparaît et les propriétés de la petite quantité d'agglutinine encore présente apparaissent seules.

La propriété hémolytique des macérations est détruite par chauffage à 100 degrés; par chauffage à 55 degrés elle est atténuée; on continue à observer l'agglutination aux deux doses étudiées. Le sérum antiricinique de chèvre (préparé par M. Truche) n'empêche pas l'hémolyse : 1 cent. cube de macération + 1/10 de cent. cube de sérum anti donne, après une demi-heure de contact, les mêmes résultats qu'un mélange au sérum normal sur les hématies de lapin.

Dans une seconde série d'essais, nous avons recherché si l'hémolysine apparaissait aussi dans l'albumen, et nous avons comparé les macérations d'albumen et de plantules aux macérations de graines non germées, obtenues dans les mêmes conditions. La germination a eu lieu à la température du laboratoire en décembre, c'est-à-dire assez lentement.

1 cent. cube de macération = 1 graine ou un albumen ; pour les plantules il n'a pas été possible d'obtenir un volume constant, correspondant à une plantule pour les différentes préparations; la quantité d'eau absorbée par les plantules et qui en sort par simple expression fait que les préparations sont d'autant plus diluées que la germination est plus avancée : dans les expériences ci-dessous le volume de liquide correspondant à une plantule varie de 1 cent. cube à 2,5 cent. cubes.

Le tableau suivant présente les résultats obtenus (mêmes conditions expérimentales que dans les essais antérieurs).

Dans les conditions de cette germination, on voit au 10e jour l'hémolysine apparaître dans les plantules, alors que les albumens ne renferment que l'agglutinine; mais au 15e jour l'hémolysine est présente dans les deux parties de la jeune plante. Elle disparaît progressivement dans la suite, et, au 40e jour, les plantules ne présentent plus qu'un faible pouvoir agglutinant.

VOLUME de macération.	GRAINES non germées.	PLANTES DE 10 jours.		PLANTES DE 15 jours.		PLANTES DE 24 jours.		PLANTES DE 40 jours.
		Album.	Plant.	Album.	Plant.	Album.	Plant.	Plantul.
1^{cc}	A ++ (1)		H ±		H ++	H +	H ++	A +
$0,1^{cc}$	A ++	A ++	H + / A +	A ++ / H ++	H ++ / A +	A ++ / H +	H +	0
$0,01^{cc}$	A ++	A ++	0	A ++ / H +	0	A ++	0	0
$0,001^{cc}$	A ++	A ++	0	A +	0	0	0	0
$0,0001^{cc}$	A +	0	0	0	0	0	0	0

(1) A ++ : Agglutination totale.
A + : Agglutination incomplète.
H ++ : Hémolyse nette.
H ± : Hémolyse légère.

Nous avons dit précédemment que le chauffage à 55 degrés atténue l'hémolysine, sans toucher sensiblement à l'agglutinine. Nous avons étudié systématiquement l'action de la chaleur sur les propriétés hémolytique et agglutinante des macérations de la germination à température ordinaire.

II. Action de la chaleur sur l'agglutinine et l'hémolysine.

L'agglutinine des macérations de graines non germées n'est pas sensible à un chauffage d'une demi-heure à 60 degrés et même d'un quart d'heure à 80 degrés; elle est donc très résistante à la chaleur (1).

L'hémolysine au contraire est relativement thermolabile; chauffée une demi-heure à 55 degrés elle est atténuée; chauffée une demi-heure à 60 degrés elle est complètement détruite et les macérations ainsi traitées ne présentent plus que le pouvoir agglutinant. Le tableau suivant témoigne de ces faits :

(1) Il en est de même de la toxine. Ces macérations tuent encore le cobaye en 1 jour et demi, à la dose de 0,01 c. c., après chauffage d'une demi-heure à 60 degrés, ou d'un quart d'heure à 80 degrés. Il faut atteindre 100 degrés pour que la toxicité soit détruite.

VOLUME de macération.	MACÉRATION D'ALBUMENS DE 15 JOURS		
	Non chauffée.	1/2 heure à 55 degrés.	1/2 heure à 60 degrés.
0,1 c. c.	Agglutination et hémol. nette.	Agglutination et hémol. faible.	Agglutination seule.
0,01 c. c.	Agglutination et trace d'hémol.	Agglutination et trace d'hémol.	Agglutination seule.
0,001 c. c.	Trace d'agglutin.	Trace d'agglutin.	Trace d'agglutin.
	MACÉRATION DE PLANTULE DE 15 JOURS		
1 c.c.	Hémol. complète et rapide.	Hémolyse nette et agglutination.	Agglutination.
0,1 c.c.	Hémol. nette ; agg.	0	0

Nous pouvons donc résumer ce paragraphe de notre travail de la façon suivante :

Il apparaît à une certaine période de la germination, à la fois dans l'albumen et la plantule, mais plus rapidement dans cette dernière, une hémolysine. Cette hémolysine est thermolabile; elle est détruite à 60 degrés, alors que l'agglutinine qu'elle accompagne est plus stable et résiste à 80 degrés. L'hémolysine disparaît dans la suite de la croissance de la plante, assez rapidement pour que l'on n'en trouve plus trace au 24e jour, dans une germination à 30 degrés. L'hémolysine n'est pas sensible à l'action empêchante de sérum antiricinique; elle est détruite par précipitation des macérations par l'alcool; en effet, nous n'en avons pas trouvé trace dans nos premiers essais, faits avec des précipités obtenus par deux traitements à l'alcool; une seule précipitation par l'alcool suffit d'ailleurs pour l'atténuer considérablement.

III. — Action toxique.

Dans l'étude de l'action toxique des macérations, nous retrouvons le phénomène de disparition de la ricine pendant la germination; nous constatons de nouveau que très peu de toxine passe dans la plantule.

Voici les résultats obtenus sur le cobaye, dans une germina-

tion lente (température du laboratoire en hiver), avec les macérations d'albumens.

QUANTITÉ injectée.	GRAINES	ALBUMENS DE		
		10 jours.	15 jours.	24 jours.
1cc »	Mort dans la nuit.	Mort en moins de 1 jour.	Mort en 1 jour 1/2.	Mort en 1 jour 1/2.
0,1cc	Mort en moins de 1 jour.	Mort en moins de 1 jour.	Mort en 1 jour 1/2.	Mort en 2 jours 1/2.
0,01cc	Mort en 1 jour 1/2.	Mort en 1 jour 1/2.	Mort en 2 jours.	Mort en 6 jours 1/2.
0.001cc	Eschare étendue.	»	»	»

Avec les plantules de 10 à 40 jours correspondantes, on n'obtient, chez le cobaye, qu'une eschare locale par injection de 1 cent. cube de macération. L'importance de l'eschare décroît avec l'âge des plantules. La macération des plantules de 40 jours contenait encore de petites quantités de ricine, car elle tuait la souris en 2 à 3 jours pour 1/2 cent. cube (des témoins bouillis ne donnant rien sur la souris).

On voit nettement combien la ricine reste localisée dans l'albumen. Dans l'expérience ci-dessus, sa disparition est très lente dans l'albumen, la germination étant faite à basse température.

La très faible toxicité des macérations de plantules pour le cobaye nous a amené à faire la recherche de la ricine toxine sur la souris aux différents stades de la croissance. Nous avons alors constaté qu'une substance toxique, différente de la ricine, intervenait à une certaine période de la croissance des plantules.

Dans une première expérience, nous avions préparé une macération de plantules de 16 jours à 30 degrés. Sous la peau et dans le muscle, le cobaye supportait l'injection de 4 cent. cubes de macération. Nous avons alors injecté à 3 souris 1/2 cent. cube de macération : 3 heures après, elles étaient mortes. L'expérience, recommencée en faisant des témoins avec macération bouillie (un quart d'heure à 100 degrés), nous a montré que le même phénomène se reproduisait avec ces derniers.

Nous nous trouvions donc en présence d'une substance toxique autre que la ricine, résistant au chauffage à 100 degrés et provoquant rapidement la mort. Dans quelques cas nous avons vu dans un lot de souris un animal ou deux résister à cette intoxication rapide ; si l'animal passe les premières heures, il est sauvé. Nous en avons ainsi vu se remettre après un malaise de quelques heures et nous avons pu les conserver pendant plusieurs semaines après l'injection.

Nous avons cherché à déterminer l'époque de l'apparition de cette substance toxique dans la plantule. Une série de germinations a été mise à l'étuve à 30 degrés. *Au bout de cinq jours*, nous déterminons la toxicité de la macération obtenue (1 plantule = 1,5 cent. cube de liquide).

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube sous la peau : pas de mort immédiate ; mais elles meurent en 1 jour 1/2 et 3 jours 1/2 (deux expériences concordantes).

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube de la même macération bouillie ; elles n'ont rien.

Nous nous trouvons en présence de ricine seulement et non pas de la substance toxique résistante à l'ébullition. D'ailleurs, la macération étant précipitée par l'alcool, on fait une solution du précipité à raison de 1 centigramme par cent. cube : l'injection sous la peau du cobaye provoque une eschare typique.

Au bout de 12 jours nous faisons une nouvelle préparation (1 plantule = 1,8 cent. cube de liquide).

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube de liquide frais sous la peau : 2 meurent dans la nuit, une troisième résiste et 8 jours après elle est encore en bonne santé.

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube de liquide bouilli pendant un quart d'heure : elles meurent dans la nuit.

A cette époque de la germination, le corps thermostabile toxique se trouve présent dans la plantule, alors qu'il manquait au 5e jour.

Nous avons précipité la macération par l'alcool et essayé la toxicité, d'une part du précipité, d'autre part de la solution alcoolique débarrassée de l'alcool par concentration dans le vide et ramenée au volume primitif par de l'eau physiologique. Nous avons constaté que le précipité était dénué de toxicité pour la souris, tandis qu'au contraire le liquide alcoolique

avait gardé la totalité de l'action toxique. Le corps toxique thermostabile n'est donc pas précipitable par l'alcool.

Au bout de 24 jours, nouvelle préparation, qui nous donne les mêmes résultats que la préparation de 12 jours.

Quelle est cette substance toxique, provoquant la mort par empoisonnement rapide, résistant à la chaleur, non précipitable par l'alcool? Probablement un alcaloïde. La préparation de grandes quantités de jeunes plantes nous est nécessaire pour essayer d'en déterminer la nature. Peut-être s'agit-il de la ricinine. On ne trouve pas dans la littérature de données sur la toxicité de cet alcaloïde. Mais E. Schulze et E. Winterstein (1) ont constaté que la ricinine se trouve chez les jeunes plantes en quantité 12 à 15 fois plus grande que dans les graines. L'apparition du poison thermostabile des plantules pourrait s'expliquer par la production de cette grande quantité de ricinine. La question demande à être étudiée, mais elle sortirait du cadre de notre présent travail.

En résumé, l'ensemble de ce travail nous permet de poser les conclusions suivantes :

La ricine toxine disparaît lentement dans la germination des graines de ricin; elle reste objectivement localisée dans l'albumen; on n'en trouve que très peu dans la plantule; sa disparition coïncide avec le flétrissement de l'albumen.

Il en est de même de la ricine agglutinine ; cette dernière semble disparaître proportionnellement plus vite que la toxine.

Pendant une période assez courte de la croissance, à côté de l'agglutinine, une hémolysine apparaît, à la fois dans la plantule et dans l'albumen; cette hémolysine est thermolabile, détruite par précipitation alcoolique et insensible à l'action du sérum antiricinique. La question se pose de savoir si l'apparition de cette hémolysine présente un rapport quelconque avec la destruction de l'agglutinine.

A un certain moment de la germination, une substance toxique pour la souris, résistante à l'ébullition, non précipitable par l'alcool, apparaît dans la plantule ; sa nature n'est pas encore déterminée, mais tout porte à croire qu'il s'agit d'un poison alcaloïdique, peut-être de la ricinine.

(1) *Zeitsch. physiol. Chem.*, 1904, t. XLIII, p. 211-221.

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET PROPHYLACTIQUES DU PALUDISME

ONZIÈME ET DOUZIÈME CAMPAGNES EN ALGÉRIE EN 1912 ET 1913 (1)

par EDMOND SERGENT et ÉTIENNE SERGENT

(Institut Pasteur d'Algérie.)

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les années 1912 et 1913 ont été peu fiévreuses en Algérie, continuant ainsi une longue série d'années favorisées, depuis la formidable épidémie de 1904, dont le souvenir hante encore le colon. Malgré cette bénignité générale, il y eut, durant ces deux années, comme chaque année, des foyers de paludisme qui se sont allumés en certains endroits, par suite de la rencontre fortuite des facteurs déterminants des épidémies palustres. Une fois de plus, nous voyons ainsi que *le paludisme est une maladie locale.* Toute réserve étant faite au sujet des causes profondes de la virulence (génie épidémique des anciens, cycle pluri-annuel de A. Celli), on peut dire ceci : en un lieu donné, le danger de contamination et la gravité des attaques sont proportionnels au nombre d'anciens paludéens non traités (réservoir de virus); mais l'extension géographique de l'épidémie est limitée par la portée du vol des Anophélines autour de ce réservoir de virus.

C'est ainsi qu'on a vu, au milieu de régions relativement saines, éclater de petites épidémies de paludisme très distantes

(1) Campagne dirigée pour le compte du Gouvernement général de l'Algérie. Pour les campagnes précédentes, voir : *Annales de l'Institut Pasteur* et *Atti della Società per gli Studi della Malaria, Rome.* Les rapports complets publiés chaque année par le Gouvernement général de l'Algérie peuvent être demandés à l'Institut Pasteur d'Algérie.

les unes des autres : en 1912, à Maison-Carrée, aux abords du barrage de l'oued-Fergoug, dans la vallée de la Tafna. En 1913, à Batna, à Palikao. A Oued-el-Alleug en pleine Mitidja, en septembre 1913, à 30 kilomètres d'Alger, une violente épidémie : sur 300 personnes, aucune n'échappe au mal et 30 au moins en meurent.

I. — Gites a Anophélines.

Les hivers 1911-1912 et 1912-1913 ont été très peu pluvieux, comme plusieurs de ceux qui les précédèrent. Cette sécheresse générale, qui, dans certaines régions, a tari des puits où, de mémoire d'homme, l'eau n'avait jamais manqué, a aussi contribué à supprimer de très nombreux gîtes à Anophélines.

Cependant, tant en 1912 qu'en 1913, la sécheresse a amené parfois ce fait paradoxal de la production de gîtes à Anophélines nouveaux : c'est qu'en effet la baisse de la nappe souterraine a transformé des lacs salubres en marécages pestilentiels, des oueds à eaux vives et courant continu en chapelets de mares et marelles stagnantes.

A Palikao, la transformation en marécage anophéligène d'un lac, inoffensif jusque-là, résulte d'une autre cause : ce lac, qui couvre un hectare environ, fournit l'eau potable aux habitants. Il est désherbé chaque année. En 1913, ce travail n'est pas exécuté, les joncs poussent avec vigueur, recouvrant rapidement la moitié de sa surface : les habitations les plus proches du lac sont envahies par les Anophélines nés dans ce gîte favorable et cette invasion d'Anophélines est bientôt suivie de celle du paludisme.

Nous devons signaler enfin l'existence de gîtes à Anophélines de l'espèce *Pyretophorus myzomyifacies* presque au niveau de la mer, à quelques mètres des vagues, dans des suintements d'eau douce sourdant de falaises marneuses (Aïn-Taya).

Une observation attentive nous a montré en 1912 que les trains qui traversent les marais de la Macta (département d'Oran) ou qui longent les bords du lac Fetzara (région de Bône) recueillent, à l'aube et au crépuscule, des essaims d'*Anopheles* que les wagons transportent au loin.

Les examens entomologiques ont montré que le *Pyretophorus myzomyifacies* d'Algérie existe aussi au Maroc, à Souk-el-Arba des Zemmour (exemplaires recueillis par le Dr Lapin). Nous savions déjà la présence d'*Anopheles maculipennis* dans le Maroc entier. A Mraier (Oued-Rhir) des *Pyretophorus chaudoyei* présentent certaines particularités dans la disposition des taches de l'aile (1).

II. — Réservoir de virus.

1° Tableaux des index endémiques.

Index endémiques relevés en 1912.

		Proportion de grosses rates		Pourcentage
Enfants	de 0 à 5 ans.	144 sur 491	591 sur 2.101	
	de 6 à 10 ans.	126 sur 689		
	de 11 à 15 ans.	321 sur 921		
Adultes	au-dessus de 15 ans		116 sur 1.104	
	Totaux.		707 sur 3.205	23,5 p. 100

Département d'Alger. — *Localités* : Birtouta, Boufarik, Attatba, Chiffa, Marengo, Montebello, Mouzaïaville, lit de l'oued Djer, Chéragas, El-Amri.

Département de Constantine. — Mondovi, Penthièvre, Bou-Otman.

Département d'Oran. — Tourville, Sainte-Léonie, Port-aux-Poules, domaine de Chantrit.

Index endémiques relevés en 1913.

		Proportion de grosses rates		Pourcentage
Enfants	de 0 à 5 ans.	27 sur 103	97 sur 426	
	de 6 à 10 ans.	43 sur 193		
	de 11 à 15 ans.	27 sur 130		
Adultes	au-dessus de 15 ans		43 sur 270	
	Totaux.		140 sur 696	21,6 p. 100

Localités : Attatba, Birtouta, Boufarik, Chéragas, Chiffa, Maison-Carrée, Marengo, Montebello, région de l'ancien lit de l'oued Djer, Oued-el-Alleug.

(1) Voir la description dans notre Rapport complet, Institut Pasteur, Alger.

2° Tableaux des résultats des examens microscopiques du sang de sujets habitant des localités paludéennes.

NOMBRE D'EXAMINÉS en 1912	PARASITÉS par l'hématozoaire			CORPS en demi-lune	CORPS en pessaire	AVEC grosse rate
	Tierce maligne	Tierce bénigne	Quarte			
22 fébricitants	3	8	2	1	2	17
45 non fébricitants . .	»	6	1	3	7	37
Totaux.	3	14	3	4	9	54
	20 à hématozoaire du paludisme.					

NOMBRE D'EXAMINÉS en 1913	PARASITÉS par l'hématozoaire			CORPS en demi-lune	CORPS en pessaire	AVEC grosse rate
	Tierce bénigne	Tierce maligne	Quarte			
87 fébricitants	66	29	8	4	6	24
37 non fébricitants . .	8	1	1	4	4	30
Totaux. . . .	74	30	9	8	10	54
	113 à hématozoaire du paludisme.					

3° Relation d'une épidémie localisée, très meurtrière, due à un apport de virus exogène.

Durant l'été 1913, un groupe d'environ 300 indigènes du Sud, hommes, femmes et enfants, originaires de la région de Boghari, viennent s'installer pour travailler dans une ferme de la commune d'Oued-el-Alleug au milieu de la Mitidja. Cette région est fort marécageuse, et cette ferme était très malsaine autrefois; elle l'est beaucoup moins. Ses habitants, européens ou indigènes sédentaires, gagnant de bons salaires et vivant bien, se sont guéris, et le réservoir de virus autochtone est fort réduit.

Au contraire, les indigènes du Sud nouveau-venus (appelés Guebla), éternels errants des routes algériennes, portent un passé pathologique lourdement chargé, sont imprégnés de diverses infections, dont le paludisme. Travailleurs médiocres, ils gagnent des salaires fort bas. proportionnels au rendement de leur travail. Arrivant dans un pays marécageux, ils infectent les

Anophélines autochtones qui leur réinoculent leur propre virus multiplié : en septembre 1913, en 15 jours, sur 300 âmes environ, ils comptent 30 morts (il y a des morts non déclarées). Avertis par le dévoué Dr Plantier, nous vérifions au microscope le diagnostic d'épidémie massive de paludisme à forme pernicieuse. Nous multiplions, avec le Dr Plantier, les injections intra-musculaires de quinine, et organisons la quininisation journalière de tout le groupement. L'épidémie fut enrayée aussitôt, et la population sédentaire voisine, européenne et indigène, fut préservée. Mais si le médecin, appelé par le colon, n'avait pas, dès le premier moment, pensé au paludisme et provoqué les mesures antipaludiques, ce virus importé aurait réinfecté gravement une région en voie d'assainissement.

Cette observation montre, une fois de plus, le danger, au point de vue de l'hygiène, des migrations non surveillées des indigènes, tour à tour cueilleurs et semeurs de virus.

4° Fièvre bilieuse hémoglobinurique.

Quelques cas sont signalés à Batna, département de Constantine (Dr Mondelin), à Palikao, département d'Oran (Dr Hautefeuille).

ÉTUDES PROPHYLACTIQUES

1° *L'amendement du réservoir de virus, par la quininisation des indigènes, anciens infectés, est la mesure la plus facile à appliquer partout en Algérie.*

Le nombre de personnes quininisées au moyen d'agents quininisateurs a été augmenté en 1913. Environ 3.500 personnes en ont profité, au lieu de 3.000 en 1912.

18 agents quininisateurs (au lieu de 16 en 1912) ont effectué des distributions de quinine sous la direction des médecins locaux ou du Dr Etienne Sergent.

39 institutrices et instituteurs (au lieu de 18 en 1912) ont quininisé leurs élèves à l'école :

2, à Attatba (printemps et automne); 1, à Montebello; 3, à l'Alma; 2, à Réghaïa; 1, au Corso; 6, à Mondovi; 2, à Penthièvre; 7, à Jemmapes; 1, à Bayard; 1, à Lannoy; 2, à Foy; 1, à Robertville; 1, à Gastonville; 2, à Aïn-Khiar; 1, à Mexna; 1, à Siliana; 2, au Vieux-Biskra; 1, à El-Hannser; 1, à Tourville.

2° *Les petites mesures antilarvaires donnent des résultats*

excellents, très nets, et sont applicables pratiquement dans de nombreuses localités.

3° *La défense mécanique reste une mesure de luxe, applicable aux fonctionnaires de l'Administration ou des Compagnies de chemins de fer, et chez les particuliers soigneux de leur confort.*

Enfin la propagande antipaludique par les brochures, affiches et pancartes a été continuée comme les années précédentes.

I. — Champs de démonstration.

Parmi les champs de démonstration, le plus ancien, celui de *Montebello*, choisi dans l'un des endroits les plus tristement célèbres de toute l'Afrique du Nord pour son insalubrité, donne un exemple magnifique de l'efficacité des mesures antipaludiques bien surveillées.

En ce petit village les nouveau-nés étaient tous autrefois infectés au berceau; or, depuis 1904, date du commencement de la campagne, on n'a pas contracté un seul cas de paludisme à Montebello. Tous les enfants au-dessous de neuf ans ignorent le paludisme : et tous les enfants au-dessus de neuf ans ont été infectés. Deux mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

Résumé des 9e et 10e campagnes a Montebello, département d'Alger.

Traités. — Européens : 74, 1 nouveau-né, en 1913; indigènes, 220.
0 cas de première invasion.
Rechutes très rares et très légères.
Témoins. — Localités voisines : 12 cas de première invasion (au moins); 3 décès en 1912, 34 décès (au moins) en 1913.

A *Tourville* et à *Sainte-Léonie*, champs de démonstration du département d'Oran dirigés par le Dr Bories d'Arzew, voici plusieurs années qu'aucun cas de paludisme ne s'est produit et que les nombreux enfants de ces populations prolifiques naissent et croissent sans fièvres. La bilieuse hémoglobinurique qui apparaissait annuellement autrefois jusqu'aux portes d'Arzew y est inconnue depuis le début de la campagne antipaludique (1906). Mesures appliquées : antilarvaires et quininisation.

Résumé des 7e et 8e campagnes a Tourville, département d'Oran.

Traités. — Européens : 800 environ, 28 nouveau-nés en 1912, 31 nouveau-nés en 1913 ; indigènes : 100.

0 cas de première invasion.

Résumé des 7e et 8e campagnes a Sainte-Léonie, département d'Oran.

Traités. — Européens : 250 environ, 13 nouveau-nés en 1913 ; indigènes : 100.

0 cas de première invasion.

A *Mondovi*, champ de démonstration du département de Constantine depuis 1907, les difficultés sont très grandes : l'apport hivernal de moustiques ailés du lac Fetzara rend la tâche du Dr Marbot et de ses dévoués collaborateurs particulièrement ardue. Pourtant les bons résultats de leurs efforts commencent à se faire sentir. Là, comme ailleurs, il faut procéder, pour établir son jugement, par comparaison avec des localités témoins, placées dans des conditions analogues, et ne profitant pas des mêmes mesures antipaludiques. La comparaison, poursuivie tous les ans, est convainquante.

Mesures appliquées : antilarvaires, quininisation, grillages aux habitations des fonctionnaires.

Résumé des 6e et 7e campagnes a Mondovi, département de Constantine.

Traités. — Européens : 900 environ, 100 nouveau-nés en 1912, 102 nouveau-nés en 1913 ; indigènes : 500.

En 1912, 5 cas de première invasion. Chez les anciens infectés, 2 cas d'hématurie chez deux enfants non quininisés.

En 1913, d'après le Dr Marbot, 4 cas de première invasion (un seul européen).

En août-septembre, d'après le Dr Parrot, pas un seul accès de paludisme.

Témoins. — Villages de Barral et de Guébar : 400 Européens, 61 nouveau-nés en 1912. D'après le Dr Marbot, en 1912, 9 cas de première invasion. En 1913, 10 cas de première invasion.

En août et septembre 1913, d'après le Dr Parrot, 38 cas de paludisme dans les villages voisins (1.133 Européens).

II. — Campagnes antipaludiques.

Le Service antipaludique collabore à de nombreuses campagnes antipaludiques demandées par les populations et que dirigent les médecins résidents. Le nombre de ces campagnes

n'a d'autres limites que celles des crédits disponibles. Il y a eu 105 kilogrammes de bichlorhydrate de quinine distribués par le Service antipaludique durant l'année 1913.

Département d'Alger. — *Plaine de la Mitidja* : Chéragas, Coléa, Attatba, région de l'ancien lit de l'oued-Djer, Marengo, Chiffa, Oued-el-Alleug, Boufarik, Birtouta, Gué de Constantine, domaine de l'Harrach à Maison-Carrée. Écoles de l'Alma, la Rhégaïa, du Corso.

Port-Gueydon, Adélia, Brazza, Vialar.

Département de Constantine. — Gambetta, Penthièvre, Robertville, École d'el Hannser, École de Jemmapes, École de Bayard, École de Lannoy, École de Foy, École de Siliana, École du Vieux-Biskra, Oued Hammimime, École de Mexna, École de Aïn Khiar, Taher, Khenchela, Foum-el-Gueiss.

Département d'Oran. — Arlal, Montagnac.

III. — Enquêtes.

En dehors de l'organisation de ces campagnes prophylactiques, le Service antipaludique a procédé, en 1912 et en 1913, à des enquêtes épidémiologiques demandées par l'État, des collectivités ou des particuliers dans des localités où de futurs centres de colonisation ou bien des exploitations agricoles sont projetés.

IV. — Chemins de fer.

Les huit réseaux de chemins de fer algériens continuent à être l'objet, de la part de leurs directions, d'une protection antipaludique attentive. Sur le réseau de l'État deux agents spéciaux chargés de cette tâche s'en acquittent avec zèle : M. Labrousse (Ouest) et M. Petit (Est). Sur les autres réseaux les mesures antipaludiques sont ordonnées : sur le Bône-Guelma par M. l'ingénieur en chef, sur le Bône-Mokta-Saint-Charles par M. le directeur de Cerner, sur le P.-L.-M. par M. Treuvelot, sur l'Ouest-Algérien par M. l'ingénieur des services de Blida-Boghari et par M. l'ingénieur Elliker (Oranie), sur le Bône-La-Calle et sur le chemin de fer sur routes du département d'Alger, par MM. les directeurs de ces réseaux.

Nous avons l'agréable devoir de remercier de leur bienveillante collaboration nos confrères des trois départements algé-

riens, le Gouvernement général, les autorités départementales et communales, les ingénieurs et agents des Ponts-et-Chaussées, les ingénieurs et agents des chemins de fer, les institutrices et instituteurs.

Nous remercions enfin cordialement de leur collaboration M. Pellegrin, inspecteur du Service antipaludique, les quininisatrices et quininisateurs, qui ont compris la beauté de leur mission et la remplissent avec une conscience et une bonté exemplaires.

Grâce à la bonne volonté de tous, chaque année marque un progrès de l'œuvre antipaludique en Algérie. La prophylaxie contre le paludisme est surtout une affaire d'éducation. Cette éducation est poursuivie inlassablement à l'école : excellents manuels à l'usage du maître et à l'usage de l'élève, du Dr Parrot, planches murales, affiches et tracts, propagande par le fait au moyen de la quininisation scolaire. L'éducation du public se poursuit dans les gares, modèles de défense mécanique, et dans les champs de démonstration disséminés dans l'Algérie. Les champs de démonstration sont des leçons de choses permanentes, qui enseignent au colon la manière d'éviter le paludisme, et l'intérêt direct qu'il a à guérir les indigènes qui l'entourent.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1913

par Jules VIALA, Préparateur au service antirabique.

Pendant l'année 1913, 330 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur; aucune mort n'a été signalée.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées.	330
Morts.	0
Mortalité, p. 100.	0

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations, depuis l'origine :

ANNÉES	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
1886	2.671	25	0,94 p. 100
1887	2.770	14	0,79 —
1888	1.622	9	0,55 —
1889	1.830	7	0,38 —
1890	1.540	5	0,32 —
1891	1.559	4	0,25 —
1892	1.790	4	0,22 —
1893	1.648	6	0,36 —
1894	1.387	7	0,50 —
1895	1.520	5	0,38 —
1896	1.308	4	0,30 —
1897	1.521	6	0,39 —
1898	1.465	3	0,20 —
1899	1.614	4	0,25 —
1900	1.420	4	0,28 —
1901	1.321	5	0,38 —
1902	1.005	2	0,18 —
1903	628	2	0,32 —
1904	755	3	0,39 —
1905	721	3	0,41 —
1906	772	1	0,13 —
1907	786	3	0,38 —
1908	524	1	0,19 —
1909	467	1	0,21 —
1910	401	0	0,00 —
1911	341	1	0,29 —
1912	395	0	0,00 —
1913	330	0	0,00 —

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories, correspondant aux tableaux suivants :

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez les animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

* * *

Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1913.

ANNÉE 1913	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité	Traités	Morts	Mortalité	Traités	Morts	Mortalité	Traités	Morts	Mortalité
Tableau A. . . .	20	0	0	43	0	0	10	0	0	73	0	0
Tableau B. . . .	16	0	0	67	0	0	30	0	0	113	0	0
Tableau C. . . .	19	0	0	84	0	0	41	0	0	144	0	0
	55	0	0	194	0	0	81	0	0	330	0	0

Au point de vue de leur nationalité, les personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

France	313
Luxembourg	4
Grèce.	1
Italie	1
Russie	1
Espagne	2
Maroc	6
Guinée Française	2
	330

Répartition par départements des 313 Français traités.

Aisne	4	Orne	6
Aveyron	8	Pas-de-Calais	2
Ardennes	7	Puy-de-Dôme	7
Cantal	2	Pyrénées (Basses-)	2
Calvados	6	Pyrénées (Hautes-)	4
Côte-d'Or	2	Pyrénées-Orientales	2
Corrèze	4	Sarthe	7
Finistère	2	Saône (Haute-)	3
Ille-et-Vilaine	14	Savoie	4
Indre-et-Loire	6	Seine-Inférieure	13
Isère	2	Seine-et-Marne	5
Loir-et-Cher	4	Seine-et-Oise	14
Lot	17	Seine	95
Manche	10	Somme	18
Maine-et-Loire	4	Vendée	7
Mayenne	11	Vienne	4
Meuse	4	Vosges	7
Nièvre	4	Yonne	2

Le Gérant : G. Masson.

Paris — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

29e ANNÉE JUIN 1915 N° 6

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DU RADIUM ET DE SON ÉMANATION SUR LA GERMINATION DES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

par HENRI AGULHON et THÉRÈSE ROBERT.

(Avec les planches IV et V.)

(Institut Pasteur. Laboratoire de M. Gabriel Bertrand.)

L'influence du radium et de son émanation sur la germination et la croissance des végétaux supérieurs a déjà fait l'objet d'un certain nombre de travaux.

Les premiers auteurs, opérant avec des doses de radium importantes, avaient conclu à une action empêchante sur le développement des plantes (1). C'était une constatation normale, étant donné ce que l'on savait sur l'action bactéricide du radium et les accidents que ses radiations provoquent chez les animaux supérieurs. En 1909, Hébert et Kling étudient l'action du radium sur l'assimilation chlorophyllienne; ils n'observent aucun effet appréciable (2).

Molisch, le premier, signale en 1912 la possibilité d'obtenir avec le radium et son émanation des effets d'activation sur la croissance des végétaux supérieurs (3). Il observe dans ses pre-

(1) Giesel, 1899; Congdom, 1911.
(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CIL, p. 230, 1909.
(3) *Sitzungsber. Acad. Wien.*, t. CXXI, 1912.

mières expériences qu'en exposant des bourgeons de marronnier ou de lilas en novembre ou décembre à l'action des rayons du radium pendant un ou deux jours, le départ de ces bourgeons se fait plus hâtivement. Dans un second travail (1), il étudie l'action de l'émanation ; il opère en appareil clos et constate que, pour de fortes doses d'émanation, 1,8 à 3,5 millicuries dans 5 litres d'air, les végétaux sont défavorablement influencés, les feuilles deviennent transparentes et tombent; pour des doses faibles, 0,1 microcurie, il se produit au contraire une activation de la croissance.

Stoklasa (2) étudie l'action du Nasturan (minerai renfermant 0,136 milligr. de radium par kilogramme) sur la culture des plantes en milieu liquide de Knopp ; en présence de 0,5 gr. de ce minerai en *tubes de verre scellés*, il observe une action activante ; à partir de 1 gramme, l'action est défavorable.

L'eau de Joachimsthal à 600 unités Mache par litre (soit 0,22 microcurie) (3) est aussi susceptible d'activer la germination des plantes, alors qu'elle est défavorable au développement de certains micro-organismes ; les témoins sont faits avec « une eau de même composition chimique ».

Stoklasa et Zbodnicky (4) observent de nouveau des activations nettes avec des eaux radio-actives naturelles et artificielles ; ils font des cultures dans des vases de terre arrosés de solutions radio-actives ; ils soumettent dans des récipients de 85 litres des plantes à l'action de l'émanation (air activé de 10 à 30 unités Mache par litre, soit 0,004 à 0,011 microcurie). Dans tous les cas, ils signalent une notable activation.

Petit et Ancelin (5) étudient l'influence de l'eau, activée par séjour dans une fontaine en ciment radifère ; ils notent une action favorisante qui se manifeste au bout d'une dizaine de jours sur la germination.

Nous ne parlons pas des expériences d'application agricole faites avec des engrais radio-actifs de composition chimique complexe et mal connue.

(1) *Sitzungsber. Acad. Wien.*, t. CXXI, 1912.
(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLV, p. 1096, 1912.
(3) 1 unité Mache $= \frac{10^{-9}}{2,7}$ curie.
(4) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLVII, p. 1082, 1913.
(5) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLVI, p. 903, 1913.

Les expériences de MM. Petit et Ancelin ne sont pas très démonstratives en ce sens que l'eau, pendant son séjour dans une fontaine en ciment radifère, peut dissoudre des traces de substances minérales; on sait combien les graines en germination sont sensibles à la présence d'une faible quantité de certains sels. La même critique peut être faite aux expériences de Stoklasa avec l'eau de Joachimsthal : ses témoins étaient cultivés sur de l'eau de « même composition chimique »; mais est-on sûr de connaître la composition chimique exacte des eaux minérales, surtout en ce qui concerne les substances présentes à l'état de traces. Les expériences avec l'eau radio-active artificielle et celles avec l'émanation publiées par Stoklasa et Zbodnicky sont à cet égard beaucoup plus intéressantes.

Dans les expériences de Stoklasa avec le Nasturan en tubes de verre, il est un fait qui frappe immédiatement l'esprit, c'est la faible teneur en radium des échantillons agissant de façon empêchante sur la culture des végétaux. On sait que le verre arrête les rayons α du radium, les plus actifs, et cependant avec 1 gramme de Nasturan, soit 136.10^{-9} gramme de radium, l'action est empêchante; dans ses expériences sur l'eau de Joachimsthal, Stoklasa observe une activation avec de l'eau à 600 unités Mache, soit 220.10^{-9} curie. On ne s'explique pas facilement que des quantités de produit actif du même ordre de grandeur puissent correspondre à des actions si différentes; il faudrait supposer que les rayons α ont une action favorisante, susceptible de compenser l'action défavorable des rayons γ agissant seuls dans le cas du tube de Nasturan.

On voit quelle incertitude règne encore sur le problème de l'action du radium sur les végétaux; nous pensons apporter une légère contribution à l'étude de ces phénomènes dans les expériences que nous allons exposer.

Nos expériences ne portent que sur la germination des graines, c'est-à-dire sur la période où la plante vit aux dépens de ses réserves ; elles se classent en trois séries :

1° Expériences avec le radium en tube scellé dans lesquelles les plantes en germination sont soumises à l'action des radiations susceptibles de traverser le verre;

2° Expériences avec une solution très étendue de bromure

de radium dans laquelle germent directement les graines ;

3° Expériences avec un échantillon de radium en ampoule non scellée, permettant à l'émanation de diffuser dans une enceinte close dans laquelle sont disposées les cultures.

Toutes ces expériences ont été effectuées suivant la technique indiquée antérieurement par l'un de nous (1). Les graines, après quarante-huit heures de germination sur une couche d'ouate humide, étaient choisies aussi semblables que possible et disposées sur des baguettes de verre maintenues à la surface du liquide de culture; celui-ci était, suivant les cas, de l'eau redistillée dans un appareil de verre sous pression réduite ou de l'eau de source, en général bouillie, pour éviter le développement des végétaux inférieurs.

1° Expériences avec le radium en tube scellé.

Ces expériences ont été effectuées sur le Pois. Le tube de radium renfermait 7,05 milligr. de radium élément à l'état de bromure.

Exp. I (eau redistillée). — Le tube de radium était placé dans un second tube de verre de 0,6 mm. d'épaisseur; il plongeait dans l'eau à 4 centimètres de la surface; un petit électroscope à feuille d'or, qui nous a servi dans tous nos essais pour comparer grossièrement la radio-activité mise en jeu, placé à 8 centimètres au-dessus de l'eau, se déchargeait complètement en 5 minutes.

Le tableau suivant donne les moyennes (sur 8 plantes) des longueurs des racines et des tiges des plantes germées, d'une part sur un témoin, d'autre part dans le récipient contenant le tube de radium, après 14 jours de culture.

	RACINE — millimètres	TIGE — millimètres	PLANTE TOTALE — millimètres
Témoin	45	79	124
Radium	46	84	130

Dans ces conditions, on n'observe aucune action de la radioactivité.

(1) Mlle T. Robert, Fixation du calcium par les plantes calcifuges. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. I, p. 88, 1914.

Exp. II (eau de source). — Le tube de radium était directement placé, sans nouvelle enveloppe de verre, dans le liquide de culture à 4 centimètres de la surface; l'électroscope se déchargeait en 30 secondes.

Moyenne de 8 plantes ; durée de la culture : 8 jours.

	RACINE	TIGE	PLANTE TOTALE
	millimètres	millimètres	millimètres
Témoins	67	41	108
	61	38	99
Radium	44	32	76

Dans cette expérience où la radio-activité agissante était nettement plus forte, on observe une influence empêchante qui était visible dès le sixième jour. Les radicelles de la culture exposée à l'action du radium étaient petites et peu nombreuses et la racine principale renflée à l'extrémité.

Exp. III. — Dans cette expérience, les conditions étaient les mêmes que dans l'expérience précédente; nous avions disposé le tube de radium de façon que la moitié des jeunes plantes soient placées immédiatement au-dessus du tube de radium, les autres en étant écartées de quelques centimètres.

Durée de la culture : 7 jours.

	RACINE	TIGE	PLANTE TOTALE
	millimètres	millimètres	millimètres
Témoins	80	35	115
	75	38	113
Plants au-dessus du tube de Ra.	40	35	75
Plants éloignés du tube de Ra.	69	27	96

Les racines des plantes, placées immédiatement au-dessus du tube de radium, étaient nettement plus courtes que les autres ; elles s'arrêtaient d'ailleurs exactement au niveau de ce tube.

Les expériences II et III montrent nettement l'influence empêchante des radiations susceptibles de traverser le verre. Cette influence ne paraît pas cependant si considérable que les expériences de Stoklasa le feraient croire. Cet auteur note une action importante avec une dose de $1{,}36 . 10^{-7}$ gramme de

radium (1); pour nous 7,05 milligr. de radium sont loin d'arrêter complètement la culture, et, lorsque les radiations traversent deux épaisseurs de verre, elles sont complètement inactives (Exp. I).

2° Expériences avec le radium en solution.

Grâce à l'obligeance de M. Debierne, nous avons eu une solution renfermant un millième de milligramme de radium à l'état de bromure. Nous en avons profité pour voir ce qui se passe lorsque les plantes germent directement dans les solutions de l'élément radio-actif. Les doses expérimentées sont de l'ordre de grandeur des quantités de radium présentes dans les échantillons de Nasturan employés par Stoklasa. Dans ces essais, la totalité des radiations du radium est susceptible d'entrer en action.

La solution de radium était répartie aux doses indiquées dans un litre d'eau redistillée pour chaque essai. Voici les moyennes des longueurs obtenues sur 8 plantes après 12 jours de culture :

DOSE DE Ra par litre en grammes	RACINE	TIGE	PLANTE TOTALE
—	—	—	—
	millimètres	millimètres	millimètres
(0)	112	47	159
10^{-7}	89	50	139
2.10^{-7}	117	46	163
4.10^{-7}	87	55	142

On n'observe dans cette expérience aucune action nette ni dans un sens favorable, ni dans un sens défavorable. En solution, les très faibles doses de radium sont inactives.

(1) Il est vrai que le Nasturan contient d'autres substances radio-actives que le radium, en particulier l'uranium; mais le rayonnement de l'uranium est considéré comme un rayonnement α, et il ne traverse pas l'épaisseur d'un tube de verre; les rayons γ, de l'uranium qui proviennent de l'uranium X, ont une intensité très faible. Du reste, dans d'autres expériences, nous avons pu constater que la présence de 5 grammes de sulfate d'urane pur en tube scellé était sans action sur les racines des plantes qui poussaient contre le tube.

3° Expériences avec le radium en ampoule non scellée.

L'échantillon de radium dont nous disposions pour cette série d'expériences correspondait à 3 milligrammes de radium métal environ. Il se trouvait placé dans une petite boîte d'ébonite ; une lame de mica maintenue par un couvercle simplement vissé fermait cette boîte, permettant ainsi la diffusion de l'émanation. Nos cultures sur eau de source bouillie étaient placées sous des cloches de verre de 45 litres de capacité, dont la base reposait sur une cuvette à photographie remplie de mercure ou d'huile de vaseline. L'ampoule de radium était placée dans un petit verre à pied, au centre de la cuvette, le couvercle vissé seulement à moitié. L'émanation s'échappait donc librement dans la cloche, et c'est à son action et à celle de la radio-activité indirecte qu'elle produit sur toute substance à son contact qu'il faut attribuer les phénomènes que nous allons décrire ; en effet, les résultats obtenus ont été les mêmes lorsque nous entourions notre ampoule d'une lame de plomb, suffisante pour empêcher le passage de la presque totalité des radiations directes.

Nous n'avions pas à notre disposition les appareils nécessaires pour mesurer la quantité d'émanation qui se trouvait dans l'air de notre cloche. L'émanation en équilibre avec 3 milligrammes de radium est égale à 3 millicuries; dans notre cas, la quantité d'émanation que nous pouvions avoir était beaucoup plus faible ; l'équilibre n'est en effet atteint qu'au bout d'un mois et nos expériences n'ont pas dépassé 15 jours ; d'autre part, la dose d'émanation émise pour un temps donné, avant la période d'équilibre, est beaucoup moins élevée (40 fois) pour un sel solide que pour les solutions ; et elle dépend de l'état plus ou moins aggloméré du composé radifère solide et, pour les sels solubles, de l'humidité de l'atmosphère (1).

De plus, il faudrait tenir compte, dans les expériences où la fermeture du dispositif est assurée par de l'huile de vaseline, de la solubilité de l'émanation dans ce liquide. Malgré cette incertitude sur la quantité d'émanation agissante, il nous paraît

(1) Curie et Debierne, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1901.

intéressant de donner les résultats que nous avons obtenus.

A côté de la cloche où on plaçait le radium, une cloche identique renfermait les témoins qui, de la sorte, se trouvaient placés dans les mêmes conditions de culture.

Les expériences ont été faites avec le pois, le soja, le lupin blanc, le blé. Partout les résultats observés ont été les mêmes, à savoir une activation considérable de la croissance; cette activation porte principalement sur les parties aériennes de la plante, les seules en contact direct avec l'air émané; la racine principale, plongeant dans l'eau (1), bénéficie dans certains cas (pois, blé) d'une augmentation d'allongement; par contre, les radicelles paraissent parfois moins nombreuses et moins bien développées.

Les tableaux suivants donnent les longueurs observées dans différentes expériences de germination.

Pois (moyenne de 16 plantes).

		RACINE	TIGE	PLANTE TOTALE
		millimètres	millimètres	millimètres
Exp. I. — 10 jours. Cloche sur mercure (2).	Témoin . .	136	23	159
	Émanation.	142	42	184
Exp. II. — 15 jours.	Témoin . .	118	68	186
	Émanation.	161	99	260
Exp. III. — 11 jours.	Témoin . .	110	81	101
	Émanation.	150	207	357

Les différences apparaissent dès le troisième jour. Pour l'expérience III, nous avons déterminé le poids sec de plante formé et le poids des cotylédons après les deux jours d'expérience, d'une part dans les témoins, d'autre part dans les plantes exposées à l'émanation; nous en avons tiré le rapport $\frac{\text{Poids de plante}}{\text{Réserves non utilisées}}$, qui nous donne une indication sur la nature du phénomène d'activation. Plus la plante aura consommé ses réserves, plus ce rapport sera élevé, et nous en

(1) Les parties plongeant dans l'eau sont en contact avec un milieu beaucoup moins riche en émanation que l'air de la cloche : le coefficient de solubilité de l'émanation étant, à 15 degrés, d'environ 0,3 dans l'eau.

(2) Les vapeurs de mercure étant toxiques pour les plantes, nous avons renoncé à ce mode d'isolement; les autres expériences sont faites sur l'huile de vaseline.

tirerons la conséquence que son activité vitale aura été plus grande : dans le cas présent le rapport $\frac{P}{R}$ est égal à 0,67 pour les témoins et 1,35 pour les plantes soumises à l'action de l'émanation. Il y a donc dans ce dernier cas, non seulement un allongement de la plante, mais une plus active consommation des réserves, une réelle activation des fonctions vitales.

Soja (moyenne de 6 plantes de 11 jours) :

	RACINE — millimètres	AXE HYPOCOTYLÉ — millimètres	PLANTE TOTALE — millimètres
Témoin	51	97	148
Émanation	41	158	199

Blé (moyenne de 10 plantes de 15 jours) :

	RACINE — millimètres	TIGE ET FEUILLE — millimètres	PLANTE TOTALE — millimètres
Témoin	140	210	350
Émanation	180	250	430

Lupin blanc (moyenne de 6 plantes de 15 jours) :

	RACINE — millimètres	AXE HYPOCOTYLÉ — millimètres	TIGE ET FEUILLE — millimètres	PLANTE TOTALE — millimètres
Témoin	169	56	0	225
Émanation	159	94	70	323

Pour l'expérience avec le Lupin, le rapport $\frac{P}{R}$ est égal dans le cas des témoins à 1,71 et dans le cas des plantes soumises à l'action de l'émanation à 2,02. Les conclusions admises pour le Pois sont donc contrôlées dans cette expérience. La planche IV montre l'aspect de quelques-uns des plants de lupin récoltés. On voit que le développement est bien plus avancé pour les plantes soumises à l'émanation, puisqu'elles ont déjà des feuilles, alors que les plantes témoins ont seulement écarté leurs cotylédons.

Dans cet ensemble d'essais, l'action favorisante de l'émanation sur la germination et le premier développement des plantes

s'affirme d'une façon saisissante. Une critique peut être faite : le milieu n'est pas stérile, et l'on sait l'action antiseptique du radium ; celui-ci n'agirait peut-être qu'en assurant la stérilité du liquide de culture. Cette critique ne semble pas avoir une grande valeur, car nous avons pu cultiver des micro-organismes en présence de l'émanation de 3 milligrammes de radium ; de plus, nos plantes n'ont jamais présenté dans les cultures témoins l'aspect de végétaux infectés, et les augmentations de longueur des tiges ne semblent pas *a priori* pouvoir s'expliquer de cette façon. Néanmoins, nous avons cru devoir faire une expérience en milieu stérile.

Des graines de Pois ont été stérilisées par agitation avec du sable stérile, lavages au sublimé et à l'eau stérilisée. On les fait germer dans des boîtes de Petri stériles contenant du coton hydrophile humide. Après quarante-huit heures, on ensemence aseptiquement les plus belles dans des flacons (contenance 500 cent. cubes) d'eau de source stérilisée par chauffage de 25 minutes à 120 degrés; un petit tube fermé par de la gaze à sa partie inférieure permet de maintenir les graines au-dessus de la surface du liquide dans lequel plongent les racines (voir planche V). On place sous les cloches un certain nombre des flacons ainsi ensemencés. Après 6 jours, la différence est extrêmement nette entre les flacons placés sous la cloche témoin et les flacons placés sous la cloche renfermant le radium. La récolte faite après 12 jours sur 6 plants donne les résultats suivants :

	LONGUEUR MOYENNE DES			RAPPORT $\frac{P}{R}$
	RACINES	TIGES	PLANTES TOTALES	
	millimètres	millimètres	millimètres	
Témoin. . . .	164	126	290	1,3
Émanation . .	197	244	441	1,75

La planche V montre la photographie de quelques plants de cette expérience. L'allongement de la tige dans les plantes soumises à l'émanation est considérable par rapport aux témoins. La racine principale subit aussi un allongement, mais les radicelles sont moins développées. Le diamètre des tiges est légèrement diminué; les espaces entre les nœuds sont très allongés, car il est à remarquer que le nombre des nœuds est le

même pour les deux séries de plantes. Voici, par exemple, les mensurations comparées des deux plus beaux plants de l'expérience (mensurations faites avec un pied à coulisse de précision donnant le centième de millimètre) :

	DIAMÈTRES	
	TÉMOIN — millimètres	ÉMANATION — millimètres
A la base	3,2	2,85
Au 1er nœud	2,8	2,4
Au 2e nœud	3,1	2,8
Au 3e nœud	2,45	2,2

	ESPACES ENTRE LES NOEUDS	
	TÉMOIN — millimètres	ÉMANATION — millimètres
De la base au 1er nœud	15 »	32,5
Du 1er au 2e nœud	9,3	48,1
Du 2e au 3e nœud	53,2	97,1

Il semble donc qu'il y ait un allongement des tissus. Les coupes microscopiques permettent de se rendre compte qu'il en est bien ainsi : le nombre des cellules sur une coupe transversale prise au même niveau de la tige est sensiblement le même ; mais ces cellules sont d'un diamètre un peu plus faible dans le cas des plantes exposées à l'émanation. Sur des coupes longitudinales, la forme des cellules apparaît comme très différente, les cellules des plantes exposées sont fortement développées dans le sens de la hauteur et légèrement rétrécies en largeur.

Voici les chiffres obtenus en mesurant les largeurs et longueurs d'un certain nombre de cellules du parenchyme cortical de la tige sur des photographies d'égal grossissement (G = 35).

Largeur des cellules.	Témoin	100 μ à 142 μ
	Émanation	42 μ à 85 μ
Longueur des cellules.	Témoin	170 μ à 230 μ
	Émanation	310 μ à 420 μ

Ces constatations tendraient à faire penser à une sorte de phénomène d'étiolement qui s'ajouterait à une évidente accélération de la croissance et des phénomènes d'assimilation des réserves.

Les tissus des animaux soumis à l'influence de l'émanation du radium présentent une certaine radio-activité [Curie, Bouchard et Balthazard (1)]; de même d'ailleurs que tout objet exposé à l'émanation présente de la radio-activité induite. Les plantes germées sous la cloche renfermant le radium sont assez fortement radio-actives : une plante, placée sous le petit électroscope dont nous nous sommes déjà servis, le décharge complètement en 15 secondes, une heure après qu'elle a été transportée à l'air libre; mais le lendemain, cette radio-activité a presque complètement disparu, l'électroscope reste encore chargé après 10 minutes. Il s'agit donc bien de radio-activité induite. Placée sur une plaque photographique enveloppée de papier noir, la plante n'a pas donné d'impression visible après seize heures de pose.

L'ensemble de cette troisième série d'expériences paraît bien apporter la preuve d'une indéniable activation de la croissance des végétaux par l'émanation du radium. Cependant un doute peut encore subsister : en milieu confiné, le radium et son émanation produisent de petites quantités d'ozone (Demarçay, P. Curie, Nasini et Lévy, Kernbaum, Lind). Or, Sigmund (2) a montré que de petites quantités d'ozone sont susceptibles d'activer la croissance de certaines plantes, en particulier du pois.

Nous avons recherché l'ozone dans l'air de nos cloches; malgré l'emploi de réactifs très sensibles (papier à l'iodure de potassium amidonné, papier à l'iodure de potassium et à la phtaléine), les résultats ont été négatifs. La quantité d'ozone formée dans nos conditions expérimentales (3 milligrammes de radium à l'état de sel solide dans 45 litres d'air) est au-dessous de la limite de sensibilité de ces réactifs. L'odorat ne nous a, lui non plus, rien indiqué à l'ouverture des cloches. Sigmund, d'autre part, a toujours observé une action empêchante sur le développement des racines. Cette action n'est pas visible dans nos expériences. De plus, l'ozone, à toutes les doses, s'est manifesté comme un antiseptique net ; des cultures de levures, de

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CXXXVIII, p. 1385, 1904.
(2) *Centr. f. Bakt.* (2), t. XIV, p. 400, 1905.

bacille pyocyanique ne nous ont montré dans les conditions expérimentales employées pour les végétaux supérieurs, aucune différence appréciable entre les témoins et les cultures exposées à l'action de l'émanation. Il paraît donc bien que l'émanation entre seule en jeu dans nos expériences.

L'activation de la croissance des végétaux supérieurs par des doses assez élevées d'émanation du radium peut faire concevoir que la radio-activité permanente du sol (1) n'est pas sans jouer un rôle dans la vie végétale.

Il est maintenant nécessaire de préciser ces premiers résultats sur la germination par des mesures exactes des quantités d'émanation favorables, et de les étendre, si possible, à la croissance complète de la plante dans des milieux naturels ou de synthèse ; il faut essayer de délimiter la part des différentes radiations dans les phénomènes observés ; l'étude histologique des tissus, que nous avons amorcée dans ce travail, permettra peut-être des constatations du plus haut intérêt pour la biologie végétale.

(1) D'après les mesures de Strutt (*Proceed. Roy. Soc.*, 1906), les roches ignées renferment en moyenne $1,7.10^{-12}$ gramme de radium et les roches sédimentaires $1,1.10^{-12}$ gramme de radium, par gramme de roche.

QUAND ET COMMENT
APPARAIT LA SENSIBILITÉ A LA TUBERCULINE

par Ét. BURNET.

(Laboratoire de M. Metchnikoff.)

Les plus beaux travaux de Pasteur enseignent que les expériences de laboratoire ne dispensent jamais d'étudier la maladie naturelle. Depuis que l'on sait qu'il se développe spontanément chez l'homme une résistance à la tuberculose, on s'est mis à observer de plus près comment la maladie naît et évolue. « Il est nécessaire, disions-nous dans les conclusions d'un travail précédent (1), de continuer l'étude de l'épidémiologie de la tuberculose dans les conditions les plus variées, et de préciser le mécanisme de l'infection par le bacille de Koch qui amène à la réaction positive. » La réaction de v. Pirquet permet de saisir le moment de la première infection, qui tournera du côté de la résistance ou du côté de la maladie; il faut noter en même temps les rapports entre l'organisme et le milieu, et observer le sujet dans la suite de sa vie.

Ce programme très simple est d'une exécution très difficile. Ce n'est ni dans les crèches, ni dans les hôpitaux qu'on peut suivre des individus pendant des années. Ce serait aux médecins de famille, mieux encore aux médecins pères de famille, à faire sur les enfants de leur clientèle ou sur leurs propres enfants la réaction de v. Pirquet, de temps en temps et surtout aux moments importants du développement : sevrage, premiers pas, changements de séjour, entrée à l'école, maladies de l'enfance, rougeole et coqueluche, etc. On réunirait ces observations pour le plus grand profit de l'hygiène individuelle et sociale. Comme il n'y a rien de plus inoffensif que la réaction de v. Pirquet, même répétée cinquante fois, ces recherches ne connaissent guère d'autres obstacles que quelques préjugés, et

(1) Ces *Annales*, t. XXV, novembre 1911.

un peu trop d'indifférence dans le public et même chez les médecins.

Ayant pu faire une enquête sur un certain nombre d'enfants élevés dans leurs familles, dans un même canton rural et à peu près dans les mêmes conditions de vie, je désire faire connaître les résultats des trente premiers mois, sachant trop bien que ce n'est qu'un commencement, mais désireux d'engager d'autres médecins à faire de semblables observations.

L'idée est si naturelle et si simple qu'elle ne pouvait manquer de venir à d'autres : ils ont rencontré, devant une enquête étendue, les mêmes difficultés, mais ils ont recueilli des faits extrêmement instructifs qui, joints aux nôtres, montrent bien l'intérêt de ces recherches et ce qu'on doit en attendre.

I

Mon groupe d'enfants vit dans une contrée agricole, à une trentaine de kilomètres de la mer. Fort peu d'industrie. Le pays est beau, fertile, et même les paysans pauvres n'y sont pas misérables. La végétation est abondante, les eaux sont bonnes. Les villages comprennent, comme presque partout, une ou deux rues de maisons contiguës, et un certain nombre de maisons isolées. Les enfants que l'on voit passer le matin se rendant à l'école frappent par leur air de propreté et de bon entretien. Tous ceux que j'ai observés ont été élevés au sein ; le lait qu'ils ont bu dans la suite était du lait bouilli ; les exceptions à cette règle sont extrêmement rares dans ce pays.

On y connaît fort peu de cas de tuberculose humaine. A signaler une seule famille où la maladie a fait plusieurs victimes depuis quatre ans, et cela par suite d'incurie ; en plus, deux jeunes filles atteintes, l'une est au début de la maladie, l'autre est phtisique : la première a perdu antérieurement deux frères par le fait de la tuberculose. Dans ces deux familles, pauvres, l'isolement n'était guère possible et l'on ne prenait pas de mesures préventives. Les logements sont salubres ; quelques-uns ont des pièces trop petites, mais toujours bien aérées et bien éclairées. Assez grande consommation d'alcool. Le département est un de ceux qui possèdent un inspecteur départemental d'hygiène. On ne signale pas de tuberculose bovine.

Tableau I. — **Détail de l'enquête.**

Nos	Nom et sexe	Né le	Inoc. I 10 mai 1912 — Age.	Résultat	Inoc. II 5 sept. 1912 — Age	Résultat	Inoc. III 12 mars 1913 — Age	Résultat	Inoc. IV 2 octobre 1913 — Age	Résultat	Inoc. V 8 juillet 1914 — Age	Résultat	Remarques
1	Ren. H	21 mai 1904	....	..	....	..	....	..	....	—	10 a. 2 m.	—	
2	Coq. F	4 déc. 1906	5 a. 6 m.	—	5 a.10 m.	—	6 a. 4 m.	—	6 a.10 m.	—	7 a. 7 m.	—	Assez gros ganglions cervicaux.
3	Lett. H	25 juin 1907	....	..	....	—	5 a. 9 m.	+	....	..	7 a. 1 m.	+	Voy. le texte p. 280.
4	Pic. H	29 juill. 1907	....	..	....	..	....	..	6 a. 3 m.	—	6 a. 11 m.	—	
5	Lewk. F	28 août 1907	4 a. 9 m.	—	5 a. 1 m.	—	5 a. 7 m.	—	6 a. 2 m.	—	6 a. 11 m.	—	4 mois de séjour en 1911, dans un sanatorium d'enfants à Berck-sur-Mer.
6-7 jum.	Carp. F	26 oct. 1907	....	..	....	..	5 a. 6 m.	—	6 a.	—	6 a. 9 m.	—	
	Carp. F										6 a. 9 m.	—	
8	Mans. F	2 janv. 1908	....	..	4 a. 8 m.	+	....	..	....	..	6 a. 6 m.	+	Voy. page 280.
9	Ru. F	19 avril 1908	....	..	....	..	4 a.11 m.	+	....	..	6 a. 3 m.	+	Voy. page 279.
10	Fers. H	11 mai 1908	4 a.	—	4 a. 4 m.	—	4 a.10 m.	—	5 a. 5 m.	—	6 a. 3 m.	—	Petits ganglions du cou.
11	Gu. H	30 juin 1908	....	..	....	..	4 a. 9 m.	—	5 a. 4 m.	—	6 a. 1 m.	—	
12	Pai. F	12 juill. 1908	3 a.10 m.	+	....	..	....	..	....	..	6 a.	+	Voy. page 280.
13	Sch. F	30 juill. 1908	3 a.10 m.	+	....	..	....	..	....	..	6 a.	+	Voy. page 279.
14	Dum. H	13 oct. 1908	3 a. 6 m.	—	3 a.11 m	—	4 a. 5 m.	—	5 a.	—	5 a. 8 m.	—	Varicelle en sept. 1912.
15	God. H	21 oct. 1908	....	..	....	..	4 a. 6 m.	—	5 a.	—	5 a. 8 m.	—	
16	Bal. H	23 oct. 1908	3 a. 6 m.	—	3 a.10 m.	—	4 a. 6 m	—	5 a.	—	5 a. 8 m	—	
17	Dyn. F	6 nov. 1908	3 a. 6 m.	—	3 a.10 m.	—	4 a. 6 m	—	5 a.	—	5 a. 8 m.	—	Petits ganglions cervicaux.
18	Vei. F	13 janv. 1909	3 a. 4 m.	—	3 a. 8 m.	—	4 a. 2 m.	—	4 a. 9 m.	—	5 a. 6 m.	—	
19	Al. F	13 janv. 1909	3 a. 4 m.	—	3 a. m.	—	4 a. 2 m.	—	4 a. 9 m.	—	5 a. 6 m.	—	
20	Mai. H	10 mars 1909	....	..	....	..	....	..	4 a. 6 m.	—	5 a. 3 m.	—	
21	Verg. F	10 mai 1909	3 a.	—	3 a. 4 m.	—	3 a.10 m.	—	4 a. 5 m.	—	5 a. 2 m.	—	
22	Gér. H	21 mai 1909	3 a.	+	....	..	....	..	....	..	5 a. 2 m.	+	Voy. page 280.
23	Har. H	6 juill. 1909	2 a.10 m.	—	3 a. 2 m.	—	3 a. 8 m.	—	4 a. 3 m.	—	5 a.	—	Chaîne de petits ganglions cervicaux.
24	Est. F	16 juill. 1909	2 a.10 m.	—	3 a. 2 m.	+	....	..	....	..	5 a.	+	Voy. page 280.
25	Verg. H	29 juill. 1909	....	..	....	..	....	..	....	..	5 a.	—	
26	Vell. F	12 août 1909	2 a. 9 m.	—	3 a. 1 m.	—	3 a. 7 m.	—	4 a. 2 m.	—	4 a.10 m.	—	
27	Aum. F	12 sept. 1909	2 a. 8 m.	..	3 a.	—	3 a. 6 m.	—	4 a. 1 m.	—	4 a. 9 m.	—	Rougeole en éruption au moment de la 4e épreuve.
28	Guid. H	14 sept. 1909	....	..	3 a.	+	....	..	....	..	4 a. 9 m.	+	Voy. page 280.
29	Th. F	16 nov. 1909	2 a. 7 m.	—	2 a.11 m.	—	3 a. 4 m.	—	3 a.11 m.	—	4 a. 8 m.	—	Rougeole et infect. buccale en oct. 1913.
30	Gér. H	22 nov. 1909	2 a. 6 m.	—	....	..	....	..	....	..	....	..	Mort de broncho-pneumonie.
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	—	[illegible]	—	[illegible]	—	[illegible]	—	[illegible]	—	
33	Ray. F	25 avril 1910	2 a. 1 m.	—	2 a. 4 m.	—	2 a. 9 m.	—	3 a. 6 m.	—	4 a. 3 m.	—	Bronchite très forte à un moment chez

37	Ba.	H	15 mai 1910	2 a.	—	2 a. 4 m.	—	2 a. 10 m.	—	3 a. 5 m.	—	4 a. 2 m.	—	Malingre, chétif dans la 1re enfance.
38	Hec.	H	10 juin 1910	1 a. 11 m.	—	2 a. 3 m.	—	2 a. 9 m.	—	3 a. 4 m.	—	....	—	Petits ganglions cervicaux.
39	Cou.	F	11 juin 1910	1 a. 11 m.	—	2 a. 3 m.	—	2 a. 9 m	—	3 a. 4 m.	—	4 a. 1 m.	—	Coqueluche 5 mois avant la 1re enfance.
40	Sing.	F	7 sept. 1910	1 a. 8 m.	—	2 a.	—	2 a. 6 m.	—	3 a. 1 m.	—	3 a. 10 m.	—	Très délicate dans la 1re enfance.
41	And.	H	10 sept. 1910	1 a. 8 m.	—	2 a.	—	2 a. 6 m.	—	3 a. 1 m.	—	3 a. 10 m.	—	Rougeole en oct. 1913. Petits ganglions du cou.
42	Cor.	H	11 sept. 1910	1 a. 8 m.	—	2 a.	—	2 a. 6 m.	—	3 a. 1 m.	—	3 a. 10 m.	—	6e enfant élevé au sein par la même nourrice, convalescent de rougeole au moment de la 4e épreuve.
43	Mar.	H	11 nov. 1910	1 a. 6 m.	—	....	..	....	..	....	..	....	..	Déplacé.
44	Bo.	H	12 nov. 1910	1 a. 6 m.	—	1 a. 10 m.	—	2 a. 4 m.	—	2 a. 11 m.	—	3 a. 8 m.	—	Angine diphtérique à 8 mois.
45	Cha.	H	9 déc. 1910	1 a. 5 m.	—	1 a. 9 m.	—	2 a. 3 m.	—	2 a. 10 m.	—	....	..	Déplacé.
46	Noi.	F	12 déc. 1910	1 a. 5 m.	—	1 a. 9 m,	—	2 a. 3 m.	—	2 a. 10 m.	—	3 a. 7 m.	—	
47	Cop.	F	5 janv. 1911	1 a. 4 m.	—	1 a. 8 m,	—	2 a. 2 m.	—	2 a. 9 m.	—	3 a. 6 m.	—	
48	Tr.	F	22 mars 1911	....	..	....	..	2 a. 2 m.	—	2 a. 7 m.	—	....	..	
49	Bar.	F	2 avril 1911	....	..	....	..	....	.	....	..	3 a. 3 m.	—	
50	Br.	F	21 avril 1911	13 m.	—	....	..	....	..	....	..	....	..	Déplacée.
51	Mal.	H	4 mai 1911	12 m.	—	1 a. 4 m.	—	1 a. 10 m.	—	2 a. 5 m.	--	3 a. 2 m.	—	Coqueluche 6 mois avant la 1re épreuve.
52	Sév.	F	1er juin 1911	11 m.	—	15 m.	—	23 m.	—	....	..	....	..	Déplacée.
53	Ma.	H	27 juin 1911	10 m.	—	14 m.	—	22 m.	—	28 m.	—	....	..	Déplacé.
54	Pel.	H	13 août 1911	9 m.	—	13 m.	—	21 m.	—	27 m.	—	2 a. 11 m.	—	Sevré entre la 1re et la 2e épreuves.
55	So.	F	30 nov. 1911	6 m.	—	10 m.	—	18 m.	—	23 m.	—	....	..	Déplacée.
56	Ro.	F	17 déc. 1911	5 m.	—	9 m.	—	17 m.	—	22 m.	—	....	..	Déplacée.
57	Tr.	F	8 janv. 1912	....	..	....	..	....	..	....	..	2 a. 6 m.	—	
58	Cam.	F	10 fév. 1912	3 m.	—	7 m.	—	14 m.	—	....	..	....	..	Déplacée.
59	Vi.	F	12 mai 1912	....	..	....	..	....	..	....	..	2 a. 2 m.	—	
60	Br.	H	21 juin 1912	....	..	3 m.	..	9 m.	..	16 m.	—	2 a. 1 m.	—	Petits ganglions du cou.
61	Ma.	F	3 juill. 1912	....	..	....	—	....	..	....	..	2 a.	—	
62	Ver.	F	23 juill. 1912	....	..	....	..	8 m.	—	15 m.	—	....	..	Déplacée.
63	Rob.	H	17 oct. 1912	....	..	....	..	5 m.	—	....	..	....	..	Mort à la suite de rougeole, 8 nov. 1913.
64	Raz.	H	5 nov. 1912	....	..	....	..	4 m.	—	11 m.	—	21 m.	—	
65	Go.	H	10 déc. 1912	....	..	....	..	3 m. 1/2	—	10 m.	—	....	..	Mort.
66	Me.	H	15 janv. 1913	....	..	....	..	....	..	9 m.	—	18 m.	—	
67	Ha.	F	12 mai 1913	....	..	....	..	....	..	5 m.	—	....	..	Morte, rougeole et bronchite.
68	Bir.	H	12 juin 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	13 m.	—	Élevés au sein.
69	Mac.	F	1er juil. 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	12 m.	—	Id.
70	St.	F	10 juill. 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	12 m.	—	Id.
71	Ban.	H	26 juill. 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	11 m. 1/2	—	Id.
72	Ch.	F	29 juill. 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	11 m. 1/2	—	Id.
73	Hi.	F	2 août 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	11 m.	—	Id.
74	Ch.	F	24 août 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	10 m.	—	Id.
75	Basc.	F	5 sept. 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	10 m.	—	Id.
76	Tur.	F	6 nov. 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	8 m.	—	Id.
77	Fag.	H	10 nov. 1913	....	..	....	..	....	..	....	..	8 m.	—	Id.

Le plan de l'enquête est celui-ci : faire périodiquement la cuti-réaction (une gouttelette de tuberculine brute, non diluée): noter tous les incidents de la vie de l'enfant, l'état de santé des parents; connaître les fréquentations, parents et voisins ; s'enquérir surtout des maladies des voies respiratoires dans le voisinage; pousser l'enquête dans le détail surtout au moment où de négative la réaction devient positive. De temps en temps, un enfant est perdu pour l'observation, soit par décès, soit parce que la famille s'est déplacée.

Il y a deux façons de résumer cette liste, et toutes deux ont leur intérêt :

1° En totalisant les enfants considérés au moment de la première inoculation (sans tenir compte du calendrier), on obtient le tableau II.

TABLEAU II.

Enfants classés par année d'âge, et considérés au moment de la première inoculation.

1re année, 23	0 positif.	
	23 négatifs, dont :	2, suivis 2 ans 1/2, sont restés négatifs.
		4, suivis 2 ans, sont restés négatifs.
		1, suivi 1 an, est resté négatif.
2e année, 12	0 positif.	
	12 négatifs, dont 9, suivis 2 a. à 2 a. 1/2, sont restés nég.	
3e année, 14	2 positifs (tout à la fin de leur 3e année).	
	12 négatifs, dont :	8, suivis 2 ans 1/2, sont restés négatifs.
		1, suivi 2 mois, est resté négatif.
4e année, 11	3 positifs, dont 1 l'est devenu de la 3e à la 4e année.	
	8 négatifs, dont 5, suivis 2 ans 1/2, sont restés négatifs.	
5e année, 8	2 positifs.	
	6 négatifs, dont :	2, suivis 2 ans 1/2, sont restés négatifs.
		2, suivis 15 mois, sont restés négatifs.
		1, suivi 7 mois, est resté négatif.
6e année, 6	1 positif, devenu positif au cours de la 6e année.	
	5 négatifs, dont :	1, suivi 2 ans 1/2, est resté négatif.
		1, suivi 15 mois, est resté négatif.
7e année, 1	négatif.	
11e année, 1	négatif.	

2° En considérant les enfants tels qu'ils sont, vivants et présents, en juillet 1914, on obtient le tableau III.

Tableau III.

Sujets présents le 10 juillet 1914, 2 ans et demi après le commencement de l'enquête, classés par années d'âge.

			réactions +	p. 100
1re année	7	dont :	0	»
2e année	5	—	0	»
3e année	5	—	0	»
4e année	8	—	0	»
5e année	12	—	1	8,3
6e année	12	—	2	16,6
7e année	10	—	4	40 »
8e année	2	—	1	»
19e année	1	—	1	»
	62	—	9	14,3

Les cas positifs doivent retenir tout de suite l'attention. 7 sur 8 ont été trouvés tels dès la première épreuve. Un seulement est devenu positif sous nos yeux (après une précédente réaction négative) de la troisième à la quatrième année. Les huit réactions positives ont été données par des enfants dans la troisième (2), la quatrième (3), la cinquième (2) et la sixième (1) années. Il n'est pas possible de dire à quel moment exact sont devenus sensibles les enfants qui ont été trouvés tels dès la première épreuve; mais on peut du moins, dans 6 cas sur 8, mettre la réaction positive en rapport avec des circonstances déterminées.

Cas 9. — *Ru...*, fille de quatre ans onze mois, vue pour la première fois le 12 mars 1913, réaction +.

Cette enfant fréquente l'école depuis moins d'un an. La femme qui l'a nourrie avait de la bronchite et de l'asthme quand l'enfant avait de quatorze à quinze mois; l'enfant a eu alors la scarlatine. Cependant, la mère, examinée par un médecin, n'a pas été trouvée tuberculeuse *cliniquement*. On ne trouve pas dans ce cas de cause certaine.

Cas 13. — *Sch...*, fille de trois ans dix mois; inoculée pour la première fois avec réaction positive le 10 mai 1912.

A eu la coqueluche un an auparavant. On ne retrouve pas autre chose.

Cas 3. — *Le...*, garçon de cinq ans neuf mois, première inoculation et réaction positive le 12 mars 1913. Elevé par une nourrice dont le fils, adulte, est atteint de coxalgie avec *abcès ouverts* spontanément et abcès qu'il a fallu inciser. La dernière suppuration s'est prolongée pendant des mois. Ce malade n'avait pas de tuberculose pulmonaire.

Cas 8. — *Ma...*, garçon de quatre ans neuf mois. Vu pour la première fois le 5 septembre 1912. Réaction positive. Le père, tuberculeux, âgé de trente-cinq ans, tousse et crache. Deuxième réaction positive chez l'enfant le 10 juillet 1914.

Cas 12. — *Pa...*, fille de trois ans dix mois, première inoculation positive, le 10 mai 1912. Nouvelle réaction positive le 10 juillet 1914. A noter des conjonctivites à répétition. La mère recevait tous les jours la visite d'une sœur qui est morte tuberculeuse six semaines avant cette cutiréaction positive chez l'enfant (plusieurs hémoptysies chez cette malade).

Cas 22. — *Gér...*, garçon de trois ans un mois, vu pour la première fois le 10 mai 1912, réaction positive. Père mort « il y a quelques années » de tuberculose pulmonaire à allure lente. Mère toujours bien portante. A changé de logis après la mort du père.

Cas 28. — *Gui...*, fille de trois ans moins deux semaines. Vue pour la première fois le 5 septembre 1912, avec réaction positive. Bonne santé générale. Double pied-bot : a fait en 1910-1911 un séjour de dix mois dans un sanatorium marin à *Berck-sur-Mer*.

Cas 24. — *Est...*, fille de trois ans deux mois ; vue pour la première fois et réaction négative le 10 mai 1912 ; seconde inoculation positive, le 5 septembre de la même année.

Petits ganglions du cou. Pas de maladie dans l'intervalle de ces deux visites. Mais une sœur, âgée de trois ans, atteinte à plusieurs reprises de conjonctivite, a eu en mai une cutiréaction *positive*, puis un écoulement d'oreilles (? nauséabond) ; à ce moment, ganglions cervicaux du côté de l'œil malade. Petits ganglions inguinaux. L'enfant n'est pas encore allée à l'école.

On ne trouve rien ni chez les parents, ni chez les voisins.

Il faudrait des examens bactériologiques et des inoculations répétés, pour affirmer que le cas auquel peut être rapportée une cutiréaction positive, était une tuberculose ouverte ou fermée. Elle était manifestement ouverte dans le cas 3, probablement aussi dans le cas 8. A noter les conjonctivites des cas 12 et 24, à propos desquels on doit rappeler les expériences d'inoculation conjonctivale de Calmette et les observations de Hamburger sur la conjonctivite phlycténulaire (1).

Le cas 5 (Tabl. I, *Leuk*...), montre qu'un séjour dans un milieu fréquenté par beaucoup de tuberculeux — sanatorium marin de Berck — ne suffit pas toujours à déterminer la sensibilité à la tuberculine (comparer avec le cas 28). La mère de *Ra*..., cas 33, a souffert de bronchite, seulement suspecte, sans que le nourrisson en ait été modifié. Quant aux enfants qui, plusieurs mois après une coqueluche ou une rougeole, ont donné une réaction négative, comment se seraient-ils comportés s'ils avaient vécu dans une ville, au lieu d'un milieu rural où ils restent beaucoup mieux préservés ?

Certaines particularités méritent d'être mentionnées. Les ganglions du cou sont fréquents chez les enfants de la campagne; on voit à quel point ils peuvent être étrangers à la tuberculose; ils sont causés par de petites infections cutanées ou buccales, par des « gourmes » du cuir chevelu, parfois par des poux et de petites lésions de grattage.

L'enquête démontre, s'il en était besoin, l'excellence du milieu rural. Comment ne pas croire aux bienfaits des colonies de vacances et de la transplantation à la campagne, telle que la pratique l'œuvre Grancher?

On peut craindre qu'en milieu absolument indemne, les enfants ne gardent jusqu'à l'âge adulte un organisme intact, qui sera ensuite exposé sans défense, sans immunisation ou résistance acquises, à la tuberculose des villes. Il n'y a sans doute plus guère de campagnes absolument indemnes; s'y trouve-t-il des bacilles en quantité et qualité convenables pour causer les infections bénignes que l'on peut croire avantageuses? On ne peut le savoir sans de vastes enquêtes d'épidé-

(1) *Die Tuberkulose des Kindesalters*, 2e éd., 1912. p. 159.

miologie et observations à long terme, que pourraient faire au mieux les médecins praticiens.

II

Voici maintenant des observations recueillies dans diverses publications relatives à la tuberculose. Sur l'intérêt que présentent ces enquêtes, l'opinion de Bruck et Steinberg (1) mérite d'être citée, car elle se présente comme conclusion d'une très sérieuse étude sur l'extension de la tuberculose pulmonaire dans les familles, logements et ateliers à Breslau. Ces auteurs font ressortir les incertitudes que comportent toujours les réponses des malades que l'on prie de rappeler leurs souvenirs et proposent le plan de recherches d'où ce facteur serait éliminé. Ce plan concorde avec celui que nous avions commencé à suivre.

Dietl (2) rapporte l'histoire d'un garçon de douze ans, qui entre à l'hôpital pour une affection tout à fait étrangère à la tuberculose, et ne donne à plusieurs reprises que des réactions négatives (inoculations cutanées et sous-cutanées) : cette période négative dure quatre à cinq mois. Dernière réaction négative le 12 juillet. Le 16 juillet, réaction positive (*Stichreaktion*, sur inoculation de 0,1 cent. cube de tuberculine brute diluée 100 fois). Donc, apparition brusque de la sensibilité. Que s'est-il passé?

Malgré les mesures de précaution prises à son égard, cet enfant entra en contact avec un enfant « phtisique » qui séjourna onze jours à l'hôpital (bacilles dans les crachats). On put même déterminer le moment précis de l'infection : les quatre jours écoulés, du 24 au 28 juin. L'enfant qui s'infecta si rapidement au contact de cette tuberculose ouverte avait fréquenté longuement, sans être infecté (comme en témoigne la série des réactions négatives), un grand nombre d'enfants scrofuleux. Sa température est restée entre 36°6 et 37°1. On n'a encore observé chez lui aucune manifestation clinique.

La première réaction positive fut une *Stichreaktion*, et la

(1) *Zeitschr. f. Hyg.*, t. LXXI, p. 179; v. p. 222.

(2) Die Entwicklung der Tuberkulinempfindlichkeit in Inkubationsstadium der Tuberkulose. *Beiträge z. Klinik der Tub.*, t. XXV, f. 3, 1912, p. 413.

période de quarante jours qui a suivi se partage en deux parties : pendant la première, l'enfant ne réagit pas à la cutiréaction, alors qu'il réagissait à la « Stichreaktion »; c'est seulement treize jours après la première réaction que la cutiréaction fut positive. Au début, la *Stichreaktion* ne se produisit que sur une inoculation sous-cutanée de 0,1 milligramme, dans la suite elle fut intense après 0,01 milligramme, même après 0,0000001 milligramme. On peut appeler temps d'incubation, par rapport à la réaction cutanée, les dix-huit jours écoulés entre l'infection et la première cutiréaction positive.

Dans un travail sur le pronostic de la tuberculose chez le nourrisson (1), Lawatschek rapporte 17 inoculations positives sur 77 enfants de mères tuberculeuses (« tuberculoses florides ») : faible proportion, qui s'explique par le fait que la majeure partie des enfants ont quitté le service dès la première semaine de leur vie. Voici quelques détails sur les enfants qui ont réagi :

Le plus jeune, quatre semaines, a passé seulement deux jours avec sa mère. Observé pendant huit semaines, il n'a montré aucun signe clinique de tuberculose. A neuf mois il a été revu à l'occasion d'une bronchite; ensuite, perdu de vue.

Trois enfants à réaction +, âgés de 8, 10 et 11 semaines, sont morts dans les quatrième et cinquième mois, de phtisie ou méningite.

Réaction positive chez 11 enfants de 3 à 6 mois : 7 sont morts avant d'avoir atteint ou dépassé l'âge de 6 mois.

Un enfant présenté à la consultation a réagi à l'âge de trente-huit jours, et se trouvait encore bien portant dans sa troisième année. C'était le huitième enfant d'une mère non tuberculeuse (cliniquement) et d'un père à tuberculose ouverte; tous les enfants précédents étaient morts de tuberculose, sauf le premier; le dernier ne vécut que parce qu'on put le séparer de son père. Il n'en eut pas moins, dès l'âge de quatre mois, de la tuberculose des os métacarpiens d'une main.

Lawatschek ajoute à ses propres observations les faits suivants, que je n'ai pu revoir dans les mémoires originaux.

Zarfl (2) : réaction positive chez un enfant de dix-sept jours (tuberculose « congénitale »).

(1) *Wiener Kl. Woch.*, 1913, n° 2, p. 51.
(2) *Sitz. der Ges. für inn. Med. und Kinderheilk.*, *Wien*, 27 juin 1912.

Römer (1) : enfant robuste, cutiréaction positive à l'âge de trente-cinq jours. A quatorze mois, tuberculose clinique, apparue à la suite de rougeole.

Pollak (2) : réactions positives chez enfants de trente-neuf jours, de six semaines (la *Stichreaktion* + devance de huit jours la cutiréaction +).

Dans une discussion sur la durée de ce qu'on peut appeler l'incubation de la tuberculose chez le nourrisson, Siegert (3) note que chez des nourrissons sains laissés en contact avec des enfants à « tuberculose floride », la cutiréaction, négative auparavant, est devenue positive, selon les cas, 12, 21 et 28 jours après l'infection. Selon Pollak, cette période d'incubation ou de « latence » est souvent plus courte.

Autre observation de Zarfl (4) : un nourrisson, né d'une mère atteinte de tuberculose pulmonaire et laryngée, est mort à 24 jours (broncho-pneumonie tuberculeuse sans lésion des ganglions du hile); à 9 jours, cutiréaction positive.

Hamburger (5) s'est demandé en combien de temps, après l'infection, se développe la sensibilité à la tuberculine? en 5 à 6 jours et même 3 à 4 jours chez le cobaye inoculé (exp. de Hamburger et Toyofuku); on doit admettre pour l'homme les mêmes chiffres, d'après cette observation d'un enfant de treize ans qui a été infecté à l'hôpital :

Entré indemne (six réactions à la tuberculine, négatives). Puis des inoculations répétées et graduées font apparaître la sensibilité peu à peu; elle s'établirait donc peu à peu, comme l'imprégnation, mais tout de même en peu de temps. Hamburger pense, d'autre part, qu'elle décline quand le sujet guérit.

Hamburger, comme de son côté Wolff-Eisner, soutient que l'infection tuberculeuse peut se produire avec une rapidité extrême, qu'elle peut se transmettre par cohabitation sans

(1) Tub. u. Tuberkulintherapie in Saüglings-und frühen Kindesalter. *Arch. f. Kinderheilkunde*, 1911, t. LV.

(2) Ueber Säuglingstub., *Beitr. z. Klinik der Tub.*, t. XIX, 1911.

(3) Deutsche Ges. f. Kinderheilk., dans *Jahrb. f. Kinderheilkunde*, t. LXXVIII-XXVIII, f. 5, sept. 1911, p. 611.

(4) Zur Kenntniss der primären Lungenherde. *Zeitschr. f. Kinderheilkunde*, t. V, 1912, p. 303; cité dans les *Archives méd. des Enfants*, 1914, f. 6, p. 462.

(5) *Die Tuberkulose des Kindesalters*, 2e éd., 1912.

contact au sens strict du mot, et il ne craint pas de comparer la contagion de la tuberculose à celle de la rougeole.

Exemple. — Une fille de onze ans entre à l'hôpital pour une hémoptysie : deux sommets atteints, bacilles dans les crachats lors d'un premier examen, bacilles absents d'une préparation faite treize jours plus tard. L'hôpital reçoit en même temps un garçon de huit semaines avec sa mère âgée de seize ans, laquelle a un sommet atteint et des bacilles dans les crachats.

Cette fille de onze ans et cette jeune mère sont la source de l'infection tuberculeuse de trois enfants, dont le lit est à proximité (et plus proche du lit de la fille de onze ans que de la jeune femme de seize ans).

Premier enfant infecté : fille de vingt-sept mois; cutiréaction et inoculation sous-cutanée négatives à l'entrée; 17 jours après, réaction +.

Deuxième enfant infecté : fille de deux ans; réactions négatives (inoculation sur et sous la peau) à l'entrée; 20 jours après, les inoculations cutanée et sous-cutanée donnent réaction positive.

Troisième enfant infecté : garçon de cinq ans; cinq inoculations, cutanées et sous-cutanées sans réaction; 10 jours après, inoculation sous-cutanée positive; 11 jours encore, et la cutiréaction est positive.

La contagion paraît bien ne se faire que par des lésions ouvertes :

Exemple : Un garçon de treize ans qui fréquente continuellement à l'hôpital des enfants tuberculeux, « mais non phtisiques »; il reste indemne. Un peu plus tard, il passe 5 jours en compagnie d'un garçon « phtisique » de treize ans : il s'infecte.

Dans les observations de Moltrecht (1), il s'agit d'une sorte de crèche, à Hambourg, où l'on reçoit surtout des enfants naturels avec leur mère. Comme on cherche à fortifier le lien qui unit la mère et sa famille à l'enfant, on permet les visites des familles, et il n'est pas possible de contrôler l'état de santé de tous ces visiteurs; avec eux peut pénétrer le bacille tuberculeux. La cutiréaction a été faite sur 50 nourrissons (mères non tuberculeuses), dont aucun ne présentait de symptôme de tuberculose. La proportion des cas positifs est véritablement énorme; Moltrecht n'a pu suivre ce groupe assez longtemps encore pour que nous soyons fixés sur les suites de la première infection.

OBSERVÉS DANS LEUR			RÉACTIONS +	
1re année.	26	dont :	11	(9 de 1 à 7 mois)
2e année.	17	—	8	
3e année.	3	—	0	
4e année.	1	—	0	
5e année.	2	—	0	

(1) Die v. Pirquets Reaktion im Kindesalter. *Beitr. z. Klinik der Tub.*, t. XXXI, f. 2, p. 257, juin 1914.

Avec l'auteur, nous sommes étonné par l'énorme proportion des cas positifs, et nous manquons de preuves pour croire qu'il s'agisse d'une infection à doses très faibles dominées par les défenses naturelles de l'organisme de si jeunes enfants.

Bien qu'ils touchent de moins près à la question qui nous intéresse, on peut encore signaler les observations suivantes : B. Overland et Dethloff (1), dans une enquête sur 843 enfants de la ville et de la campagne, voient le pourcentage des réactions positives s'élever, de sept à quatorze ans, de 29 à 51 p. 100; et ils notent que dans les familles d'enfants à réaction positive les cas de tuberculose sont quatre fois plus élevés que dans les autres familles; cependant la très grande majorité des réagissants (71,46 p. 100) proviennent de familles indemnes de tuberculose : évidemment la contagion par fréquentation déborde les limites de la famille proprement dite; l'école est une seconde famille. Dethloff remarque que dans les familles où il y a de la tuberculose, les enfants sont presque tous infectés dès l'âge de deux ans. Ces auteurs ont vu la sensibilité apparaître chez des sujets de seize ans (cf. nos observations sur les jeunes Kalmoucks, dans le mémoire déjà cité). Ils ont vu, dans une autre enquête, 13,8 p. 100 des réactions négatives provenir de maisons ayant des cas de tuberculose. A la campagne, le moment de la plus grande infection est treize ans, au lieu de dix ans à la ville.

Sur les enfants d'une sorte de sanatorium-école, Kr. Isager (2), en cinq ans, ne voit se développer, sur 111 inoculations négatives à l'entrée, que 14 réactions positives; les sujets ont de huit à quatorze ans, la plupart de onze à douze ans. Mais sur ces 14 éclosions, l'auteur en met de côté 7, les attribuant à l'effet d'une tuberculine forte alors que la première épreuve avait été faite avec une tuberculine faible. Sur les 7 qu'il retient, 6 étaient localisées dans une même fraction des élèves et du bâtiment. L'examen des crachats n'a pas été fait minutieusement : l'auteur recommande, d'après Blume, d'examiner le mucus laryngé prélevé avec une sonde : chez l'homme comme chez les bovidés, ce procédé donnerait un résultat

(1) Untersuch. mit v. Pirquets Reaktion, *Zeitschr. f. Tub.*, XX, f. 3, juin 1913, p. 252.

(2) *Beitr. zur Klinik der Tub.*, t. XXI, f. 1, mai 1914, p. 97.

positif dans des cas où les procédés courants ne montrent pas de bacilles.

Cette suite d'observations fragmentaires montre combien il est difficile d'en avoir de complètes. Les plus précieuses sont celles qui saisissent sur le vif l'apparition de la sensibilité à la tuberculine, d'une façon progressive, mais très rapide. Concluons qu'il est désirable de faire des observations suivies portant sur une grande partie de la vie humaine à partir de la naissance. Grâce à une piqûre superficielle tout à fait inoffensive, les médecins pourraient nous apprendre sur l'épidémiologie de la tuberculose ce que nous avons maintenant le plus d'intérêt à savoir.

Juillet 1914.

SUR UNE PRÉTENDUE VARIATION BIOCHIMIQUE DU FERMENT BULGARE

par F. DUCHAČEK.

Effront (1) a obtenu avec le ferment bulgare, le facteur principal du lait caillé bulgare ou Yoghourt, des résultats qui ne concordent pas avec ceux des savants de l'Institut Pasteur.

G. Bertrand et Weissweiler (2), G. Bertrand et moi (3) avons constaté que le ferment bulgare retiré du Yoghourt est pardessus tout un ferment du lactose et de quelques sucres simples, le glucose, le galactose, le mannose et le fructose, qu'il transforme presque complètement en acide lactique (4). Dans le lait la quantité de cet acide atteint facilement 25 grammes par litre ; on trouve, en outre, pour cette proportion d'acide, un peu d'acide succinique, environ 1/2 gramme, à peu près autant d'acide acétique et des traces d'acide formique. Le ferment du Yoghourt ne touche pour ainsi dire pas aux matières grasses et ne dissout guère plus d'un dixième de la caséine contenue dans le lait; le reste de cette matière protéique coagule à cause de l'acidité, mais persiste ensuite à l'état solide, quelle que soit la durée de son contact avec le microbe.

Cette diagnose biochimique, résultant de recherches concordantes entreprises par plusieurs savants, à l'Institut Pasteur, n'a cependant pas été admise par Effront. D'après ce dernier, le ferment bulgare serait au contraire un ferment protéolytique, détruisant la caséine et transformant le lait en un liquide jaune clair de plus en plus foncé.

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 28 novembre, t. CLI. p. 1007, 1910.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XX, p. 977, 1906; *Annalen der Chemie*, t. CCCLI, p. 486, 1906.

(3) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXXIII, p. 402, 1909; *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, Paris, t. CXLVIII, p. 1338, 1909.

(4) Voir aussi : M. Cohendy. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 27 mars et 17 avril 1906; L. Margaillan. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CL, p. 45, 1910; G. Bertrand et R. Veillon. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLII, p. 310, 1911.

Mais, comme l'a fait observer Gab. Bertrand (1), le microbe employé par Effront provenait de préparations commerciales; à moins d'admettre une variation biochimique considérable du ferment bulgare due à quelque circonstance encore inaperçue, les résultats obtenus par Effront ne peuvent s'expliquer que par l'ingérence d'une espèce microbienne étrangère à celle du Yoghourt.

Pour répondre à cette critique, Effront a examiné comparativement le ferment bulgare type, étudié par G. Bertrand et ses collaborateurs, et les microbes contenus dans plusieurs préparations médicinales du commerce (2). Il a reconnu l'exactitude des caractères assignés au véritable ferment bulgare et il a admis, mais sans en donner de preuves suffisantes, que la différence entre le travail du ferment Bertrand et des ferments médicinaux n'est pas due à des ferments différents, mais plutôt à une variation biochimique provenant des conditions de culture et il cherche l'appui de cette affirmation dans l'essai suivant :

Ensemencé dans un milieu contenant de la peptone, du carbonate de chaux et du glucose, le ferment étudié par G. Bertrand se comporte comme un ferment lactique et cela *jusqu'au moment où tout le sucre a disparu*. Quand on abandonne ensuite la culture pendant *une quinzaine de jours*, il se forme un *voile* sur la surface du liquide, les bactéries composant le voile se remplissent *de spores*, et la culture à ce moment donne un travail *absolument identique à celui que produit la lactobacilline*.

Les conclusions formulées par M. Effront n'auraient pas seulement, si elles étaient exactes, une grande importance au point de vue de la connaissance des variations biochimiques des espèces microbiennes, elles pourraient aussi causer un trouble sérieux et préjudiciable dans l'esprit des chercheurs qui s'occupent des applications thérapeutiques ou alimentaires du ferment bulgare. C'est pourquoi il était nécessaire de reprendre l'étude comparative des deux microbes incriminés. Cette étude est l'objet du présent mémoire.

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLI, p. 1161, 1910.
(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLII, p. 463, 1911.

La culture pure du ferment bulgare m'a été fournie par M. Metchnikoff, l'autre provenait d'un envoi de M. Effront. Voici groupés, en dehors de la partie expérimentale dont on trouvera plus loin le détail, les principaux résultats de cette étude :

1. On a déjà trouvé de grandes différences entre les deux microbes, en examinant les conditions de leur développement et leur *milieu de culture*. Tandis que le microbe d'Effront se développe très bien dans tous les milieux usuels de laboratoire, le ferment Bertrand se montre très sensible. Dans *les milieux dépourvus de sucre*, bien que par ailleurs favorablement composés, le ferment Bertrand ne se développe pas du tout, sa culture sans sucre étant impossible; le microbe d'Effront, au contraire, n'exige pas la présence du sucre, il donne une culture florissante déjà dans les solutions de peptone, même dans l'eau distillée et forme un voile épais à la surface du liquide.

La nature du sucre nécessaire à la culture du microbe Bertrand n'est pas indifférente. Les meilleurs sucres sont le glucose, le galactose et le lactose, bien que le fructose et le mannose soient aussi fermentescibles. Au contraire, le *saccharose* et le *maltose* résistent à l'action du microbe. Il est même impossible d'obtenir l'attaque de ces sucres par une sorte d'entraînement, comme l'avait essayé Margaillan (1), à l'aide du dextrose ou du lactose.

Le ferment Effront ne décompose pas non plus le saccharose, mais il fait fermenter activement le *maltose* (en 48 jours, 144,5 milligrammes, c'est-à-dire 40 p. 100) et conserve dans ce milieu son activité pendant quelques mois.

2. Dans les milieux artificiels, la présence du sucre n'est pas suffisante pour la végétation du microbe Bertrand ; celui-ci exige encore la présence de *carbonate de calcium*, lequel n'agit pas seulement en supprimant, au fur et à mesure, l'influence fâcheuse de l'acide lactique déjà formé, mais favorise encore, d'une autre manière, le développement de la culture.

On ne peut, en effet, substituer un autre carbonate au carbonate de calcium ; les carbonates de magnésium et de zinc ne sont pas favorables à la culture du microbe Bertrand, tandis

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CL, p. 45, 1910.

que le phosphate monocalcique, même sans le carbonate, a favorisé la culture. Si nous considérons que le lait est un milieu riche par lui-même en sels calcaires et que c'est le seul milieu auquel il ne faut rien ajouter pour avoir une culture florissante, nous sommes amené à conclure que ce sont probablement les *sels de chaux* qui sont exigés par le ferment Bertrand et qui manquent à la plupart des milieux artificiels.

Avec le ferment Effront, au contraire, la craie introduite n'a aucune influence appréciable sur le développement du microbe.

3. Les deux ferments se comportent de manière différente suivant qu'on étale le liquide nutritif dans un matras à fond plat ou qu'on l'introduit dans un tube étroit ; cela suffit pour qu'on puisse admettre que ces microbes sont très inégalement avides d'oxygène. C'est ainsi qu'on a trouvé que le ferment Bertrand est un aérobie facultatif, marquant *pour l'anaérobiose* une *préférence* si grande que l'accès de l'air peut tuer la semence.

La culture d'Effront, au contraire, s'est développée partout et a formé toujours des *voiles*, ce qui prouve une tendance à la vie *aérobie*.

4. On a constaté d'autres différences en étudiant les modifications que le *lactose* subit sous l'influence des deux microbes. Dans ce but, on les a cultivés comparativement sur l'extrait de touraillons, additionné de 4 p. 100 de lactose, 1 p. 100 de peptone et 3 p. 100 de carbonate de calcium précipité.

Les microbes étudiés transforment le lactose en acides lactiques, mais les produits formés n'agissent pas de la même manière sur la lumière polarisée. Le ferment Bertrand produit un acide inactif dû à un mélange d'acide lactique droit et d'acide lactique gauche en quantités rigoureusement égales ; *la quantité de ces acides correspond très précisément à celle du sucre disparu* et leur mélange est inattaquable par le microbe. La culture d'Effront, au contraire, toutes conditions égales d'ailleurs, ne se comporte pas de même ; elle forme l'*acide lactique droit* en proportion qui ne correspond qu'à la *moitié* du lactose fermenté ; il est probable que tout le sucre est d'abord transformé en un mélange à parties égales d'acides lactiques droit et gauche, mélange dans lequel l'acide gauche

est utilisé par le microbe, tandis que l'acide droit reste dans le liquide.

A côté de l'acide lactique, il y avait peu d'*acide succinique*, environ 2,6 p. 100 avec la culture d'Effront, donc *10 fois plus* qu'avec le microbe Bertrand qui n'a produit que 0,26 p. 100 de cet acide.

Parmi les substances volatiles, on a trouvé l'*acide acétique* et l'*acide formique*; le microbe Effront forme *4 fois plus* d'acides volatils que l'autre ferment, c'est-à-dire que 12,9 p. 100 de sucre ont été transformés en acides volatils, tandis que la culture de Bertrand ne modifie que 3,2 p. 100 de sucre de cette manière.

Le *rapport* entre les acides fixes calculés en acide lactique et les acides volatils, évalués en acide acétique, est 31 avec le ferment Bertrand et 4,35 seulement avec la bactérie d'Effront.

5. J'ai continué à étudier les transformations que les deux microbes font subir au *lait* et en particulier, au sucre de lait. Dans le lait pur, l'acidité libre augmente graduellement avec l'âge de la culture et atteint bientôt un *maximum* de 2,6 à 3 p. 100 d'acide lactique avec le ferment Bertrand et de 0,5 à 0,6 p. 100 seulement avec la culture d'Effront. Après avoir touché ce maximum d'acidité, qui est alors *5 fois plus élevé* avec le ferment Bertrand, la transformation du sucre ne s'arrête qu'avec le ferment Bertrand, dont la semence est bientôt tuée, tandis que le ferment Effront continue encore à faire fermenter le sucre, mais l'acidité du liquide n'augmente plus, de sorte que le rapport entre le sucre fermenté et l'acidité locale du milieu *diminue de plus en plus*. Le rendement en acide lactique de 75 p. 100 au début est tombé à 20 p. 100 en 4 semaines. Ceci montre bien, en passant, que la détermination de l'acidité seule ne saurait en aucune façon servir d'indicateur de la fermentation produite par le ferment Effront. On ne peut s'expliquer ce fait que par la décomposition partielle de l'acide lactique et aussi par la neutralisation de cet acide, grâce à l'ammoniaque provenant de la fermentation de la caséine. En effet, comme le montrent les cultures additionnées de carbonate de calcium, le ferment n'a pas cessé de produire des acides dans ces cultures, le rapport entre le sucre disparu et l'acidité apparue, calculé en acide lactique, a toujours été *constant*.

La transformation de sucre de lait par la bactérie d'Effront

est toujours très lente et incomplète, même en présence de carbonate de calcium ; par exemple dans une culture de *deux ans*, on a trouvé encore une grande proportion de sucre intact, quoique le ferment y ait conservé toute son activité biochimique. Le ferment Bertrand se comporte tout à fait autrement; il fait fermenter le sucre avec une activité très grande et, s'il y a du carbonate de calcium qui, en saturant les acides formés, favorise le développement de la culture, le travail du ferment est encore plus intense et plus parfait, ne s'arrêtant pas jusqu'à ce que tout le sucre ait disparu.

6. Les résultats de ces essais démontrent d'abord le fait connu que le ferment Bertrand est un des ferments lactiques les plus *sensibles*; que *sa longévité est très courte*, même dans les meilleurs milieux nutritifs. Le microbe résiste mal au vieillissement, surtout lorsque le milieu ne contient pas de carbonate de calcium ; il est gêné et affaibli par ses propres produits, qui, à partir du moment où le maximum d'acidité est atteint, c'est-à-dire 25 à 30 grammes d'acide lactique pour 1 litre de lait, le tuent au bout de *4 à 10 jours*, selon la température. Mais, si par addition de craie au lait, l'influence fâcheuse de l'acide lactique est supprimée, la mort de la bactérie vient plus tard, quelquefois au bout de trois mois environ ; vers la fin, la culture est déjà très affaiblie et donne des coagulations de lait de plus en plus retardées.

Le ferment Effront, au contraire, est une espèce microbienne très résistante qui se développe rapidement dans tous les liquides nutritifs et y conserve, pendant *2 ans*, peut-être encore plus longtemps, toute son activité biochimique et coagule encore après ce temps le lait au bout de quelques heures.

7. L'affirmation d'Effront que le ferment Bertrand, dans des conditions particulières, acquiert les propriétés des microbes protéolytiques, a été examinée par des essais faits aux températures différentes sur les divers milieux nutritifs. On a employé le lait pur ou additionné de carbonate de calcium et les solutions artificielles des divers sucres tels que le glucose, le galactose, le mannose, le lactose, le saccharose et le maltose, dans la décoction de touraillons peptonée et additionnée de carbonate de calcium.

A des intervalles de quelques jours, on a fait l'analyse du

milieu pour avoir l'image complète de la fermentation et pour déterminer, en particulier, le moment important où les dernières traces de sucre ont disparu; d'après M. Effront, c'est au bout d'une quinzaine de jours à partir de ce moment que la transformation d'un ferment dans l'autre doit avoir lieu. Même dans les cas où l'aspect extérieur du liquide n'a pas manifesté de changement — par la liquéfaction de la caséine et la formation de voiles, composés de bactéries remplies de spores — on a toujours fait un contrôle de la culture par un nouvel ensemencement dans la solution de peptone et dans le lait écrémé, bien stérilisé. Ces ensemencements sont les meilleurs indicateurs de la transformation, car la solution de peptone n'est apte qu'à la culture de ferment Effront et le lait est modifié d'une manière différente par les deux microbes. Tandis que le ferment Bertrand coagule le lait en bloc et le transforme en une matière d'aspect porcélanique qui reste épaisse et blanche et ne change pas du tout avec l'âge de la culture, la bactérie d'Effront, au contraire, après avoir coagulé le lait, commence déjà, au bout de quelques heures, à modifier très profondément la caséine; cette modification débute à la surface du lait et continue dans les couches inférieures jusqu'à ce que tout soit dissous et transformé en un liquide transparent. On n'a pas jugé suffisant ce contrôle fait sur le lait pour les liquides complètement débarrassés de sucre; dans ce dernier cas, on a, en outre, suivi la dégradation de la caséine par l'analyse, pour voir si le travail protéolytique du ferment n'avait pas augmenté.

Jamais, si la stérilisation des liquides avait été bien faite, je n'ai trouvé avec le ferment Bertrand, même après disparition complète de sucre, la formation de *voile* à la surface du liquide, bien que les essais eussent été prolongés un temps 4 à 6 fois plus long que celui jugé suffisant par M. Effront pour le changement des propriétés du microbe.

Le fait, constaté déjà par Cohendy (*loc. cit.*), que le ferment bulgare ne donne pas de *spores*, s'est également vérifié dans toutes mes expériences.

Après disparition complète du sucre contenu dans le milieu, le microbe étant ensemencé dans du lait y a produit une coagulation normale sans avoir visiblement attaqué la

caséine, dont il n'a solubilisé que 5 à 12 p. 100, c'est-à-dire une proportion déjà annoncée par G. Bertrand et Weissweiller.

Le microbe qui a utilisé tout le sucre du milieu ne s'est jamais développé dans une dissolution de *peptone* seule, signe que le microbe ne possède pas les propriétés du ferment Effront.

Il n'est guère admissible qu'une bactérie extrêmement sensible devienne tout d'un coup un ferment d'une résistance extraordinaire, ni qu'elle acquière aussi rapidement la faculté de dégrader des sucres jusque-là infermentescibles. Il est encore moins vraisemblable que le ferment Bertrand ait acquis ces caractères juste au moment où il est le plus affaibli et où la condition principale de son existence, le sucre, a disparu du liquide.

Il est, d'autre part, hors de doute qu'un microbe, qui acquiert facilement des propriétés tout à fait nouvelles, doit les perdre aussi sans aucune difficulté. Si donc le ferment Effront n'est qu'une variation biochimique du ferment bulgare, il doit exister, à coup sûr, des moyens qui mènent aussi du ferment Effront au ferment Bertrand. *Or, dans aucun cas, la culture d'Effront n'a acquis les propriétés du ferment bulgare, elle a toujours conservé, au contraire, son caractère protéolytique.*

8. Dans une longue série d'essais que j'ai faits avec le ferment Bertrand, il y a eu quelques cas où, même avec les cultures pures de ce microbe, j'ai observé des voiles à la surface du liquide et la liquéfaction de la caséine du lait. En cherchant la cause de ce fait curieux, j'ai trouvé que *la stérilisation du milieu n'était pas suffisante.* On sait que la stérilisation du lait est difficile; or la difficulté augmente si l'on ajoute du carbonate de calcium. J'ai pu constater, en effet, par une série d'expériences, que la stérilisation, faite d'après l'indication d'Effront — 20 minutes à 1 atm. — pour *peut être, suivant le cas, tout à fait insuffisante* non seulement le lait, mais aussi pour les milieux artificiels, *additionnés de carbonate de calcium.* Après plusieurs jours d'étuve à 45 degrés, une partie des milieux ainsi stérilisés était troublée et couverte d'un voile et, avec le lait, la caséine était fortement attaquée. Il est arrivé quelquefois qu'une stérilisation 5 fois répétée n'était pas encore suffisante.

Si l'on considère que la fabrication des produits médicinaux se fait dans les mêmes conditions, on n'est pas loin de la vérité en disant qu'ils peuvent facilement renfermer des ferments protéolytiques. L'ingérence d'une autre espèce microbienne dans la préparation du Yoghourt n'a pas autant d'importance si on se place dans le cas d'un riche ensemencement à la température optimum avec une culture jeune et au maximum de son activité biochimique. Le ferment bulgare sera alors le vainqueur qui se développera et transformera le lait en un Yoghourt typique; une forte acidité rendra ensuite impossible la végétation des autres microbes. Mais les milieux artificiels additionnés de carbonate de calcium peuvent donner un autre résultat. Le carbonate de calcium sature l'excès d'acidité produite par le ferment Bertrand, qui est tué peu après la disparition de la dernière trace de sucre; à ce moment, se développent les microbes étrangers, qui, doués d'une résistance extraordinaire, ont survécu aux conditions défavorables et peuvent se contenter, sans avoir de sucre, des matières nutritives restées dans le liquide.

On peut aussi expliquer l'effet observé par Effront sur son milieu glucosé. Le lait additionné de carbonate de calcium ne donne pas aussi facilement le même résultat, à cause d'une acidité plus élevée qui reste toujours dans le lait surnageant du carbonate et qui surpasse ordinairement le maximum supportable par les microbes.

Il n'est pas difficile maintenant d'interpréter les résultats obtenus par Effront. Le ferment bulgare végète mal ou pas du tout sur les milieux usuels de séparation; comme, dans les préparations commerciales et particulièrement les préparations sèches, sa vitalité est affaiblie et parfois supprimée, son isolement peut devenir très difficile, sinon impossible. A moins que la préparation soit une culture pure, le microbe affaibli succombe vite aux microbes étrangers capables de se développer dans tous les milieux; il peut même succomber à ceux qui restent dans le lait, si celui-ci n'a pas été suffisamment stérilisé. Dans ces cas, les coagulations du lait sont suivies d'une profonde transformation de la caséine, mais les Yoghourts préparés ne sont pas typiques et leur saveur les trahit aisé-

ment. Le ferment Effront ne donne pas de Yoghourt typique; les produits qu'il fournit ont un goût un peu amer, moins agréable que celui du Yoghourt vrai ou préparé à l'aide du ferment Bertrand.

On ne peut donc reconnaître comme exacte la variation biochimique du ferment bulgare admise par Effront; les résultats obtenus par ce savant doivent s'expliquer par cette circonstance que les préparations commerciales examinées par lui ne contenaient pas le ferment bulgare ou le contenaient sous une forme déjà affaiblie; de sorte que, dans les milieux nutritifs ensemencés avec ces préparations, se sont développés ou des ferments protéolytiques, déjà contenus dans les préparations, ou des microbes restés dans les milieux nutritifs insuffisamment stérilisés.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

En étudiant les propriétés des deux microbes pour constater si l'un peut être transformé en l'autre, je les ai cultivés comparativement non seulement dans le liquide glucosé, où la transformation a été observée par Effront, mais aussi dans du lait et dans un milieu artificiel spécial en présence de différents sucres. Le milieu artificiel spécial recommandé par G. Bertrand et moi (*loc. cit.*) est une décoction de touraillons additionnée de 1 p. 100 de peptone et de 3 p. 100 de carbonate de calcium précipité dans laquelle on ajoute les sucres à la dose de 4 p. 100. Comme sucre, j'ai employé le plus souvent du glucose ou du lactose, quelquefois aussi du galactose, du mannose, du saccharose ou du maltose. Dans chaque série d'expériences, les milieux nutritifs témoins étaient mis à l'étuve en même temps que les milieux nutritifs ensemencés et la série n'était jugée bonne que si tous les témoins restaient stériles.

Pour ensemencer, on a introduit dans chaque milieu une dose égale d'une même culture de deux jours, dont la faculté de coaguler le lait était bien développée et les liquides ensemencés ont été ensuite mis à l'étuve à 30 degrés ou à 40 degrés centigrades. Dans tous les cas, on a remarqué, au bout de quelques heures une végétation de plus en plus abondante et accompagnée de voiles à la surface du liquide avec du ferment Effront.

Avant de commencer les analyses, on a procédé à l'examen microscopique et on a introduit une très petite quantité de liquide cultivé dans divers milieux pour s'assurer si le microbe n'avait pas été tué et si ses propriétés n'avaient pas changé.

Pour faire le *dosage des sucres* on a suivi la méthode indiquée par G. Bertrand (1). Le lait a été d'abord débarrassé de la caséine par une solution de sulfate mercurique, dont l'excès dans le filtrat a été éliminé par la poudre de zinc; après avoir enlevé le zinc, on a déterminé sur le liquide limpide le pouvoir réducteur.

Le mémoire de G. Bertrand et Weisweiller (*loc. cit.*) m'a donné les détails pour le dosage de la *caséine*.

Le dosage de l'*acidité* totale, calculée en acide lactique, a été fait par un titrage en présence de phtaléine, avec la liqueur de soude 1/5 N, sans tenir compte de l'éther lactyllactique, qui diminue un peu l'acidité du liquide et prend naissance spontanément par réaction mutuelle de deux molécules d'acide lactique. La proportion d'acide lactique contenue sous cette forme d'éther n'a été déterminée que dans les cas d'un grand volume de liquide, où l'erreur aurait, sans cela, été trop grave. Pour avoir la quantité d'acides formés en présence de carbonate de calcium, on a dosé le carbonate resté indissous.

En outre, on a fait l'analyse chimique d'après la méthode indiquée par G. Bertrand et moi (*loc. cit.*).

La *stérilisation* des milieux nutritifs a été faite le plus soigneusement possible, car j'ai constaté que la stérilisation du lait et des milieux artificiels avec le carbonate de calcium est très difficile. Le lait employé par les expériences a été stérilisé six à huit fois à des intervalles d'un ou deux jours; pour être sûr que la stérilisation était bien effectuée, on ne s'est servi que du lait qui, après sept à dix jours d'étuve à 45 degrés, est resté stérile. Le lait qui s'est coagulé après ce temps était plusieurs fois soumis à l'analyse chimique et les chiffres trouvés pour le sucre, l'acidité, les acides fixes et volatils et pour la caséine rappellent nettement ceux que donne le microbe d'Effront.

La même précaution que pour la stérilisation du lait est

(1) *Bull. de la Soc. chim. de Paris*, 3e série, t. XXXV, p. 1285, 1906.

nécessaire pour celle des milieux artificiels additionnés de carbonate de calcium, car celui-ci retarde une bonne stérilisation ; les liquides se troublent souvent à l'étuve et il se forme des voiles à la surface du liquide.

La stérilisation de 20 minutes à une atmosphère, employée par Effront, et sans la précaution indiquée plus haut par moi, est illusoire et n'a pu donner dans tous les cas des milieux sûrement stériles.

A plusieurs reprises, j'ai observé que, dans le lait ainsi stérilisé, les ferments étrangers poussent mieux qu'une culture affaiblie du ferment Bertrand qu'on y avait ensemencée, il y a eu coagulation accompagnée d'une disparition de la caséine comme avec la culture d'Effront (voir la culture de 30 jours dans le tableau III).

Au contraire, la culture jeune (de deux jours) du ferment Bertrand se développe bien dans le lait mal stérilisé et l'acidité produite par le microbe empêche vite le travail protéolytique des autres ferments ; mais après quelques jours, le ferment Bertrand est affaibli : ensemencé dans le lait stérilisé, il ne développe plus et succombe, tandis que les ferments protéolytiques restent intacts à côté de lui.

Ayant remplacé le lait insuffisamment stérilisé et contenant, en conséquence, des ferments inconnus, par du lait bien stérilisé, ensemencé par le ferment Effront, j'ai obtenu les mêmes résultats : 20 tubes de lait bien stérilisés ont été richement ensemencés par une vieille culture de ferment Effront et ensuite stérilisés pendant 20 minutes à une atmosphère, comme l'avait indiqué Effront. Une moitié de cette série est restée intacte, dans les autres tubes on a introduit une culture de ferment Bertrand très pure et très active. Après sept jours d'étuve à 45 degrés on a trouvé que :

1° Sur 10 tubes témoins, 7 sont restés stériles et 3 ont montré la végétation du ferment Effront.

2° Sur 10 tubes ensemencés, on a obtenu dans tous les cas un Yoghourt normal. Ces Yoghourts ont été laissés pendant dix jours à l'étuve et puis utilisés pour l'ensemencement d'un autre lait bien stérilisé ; *deux* tubes sur dix ont montré le développement du ferment Effront.

Cet essai très simple prouve nettement que le ferment

Effront est un microbe très résistant, qui peut survivre à la stérilisation et aux conditions défavorables produites par une jeune culture de microbe Bertrand.

Le ferment Effront introduit dans un Yoghourt, pur déjà fait, n'y pousse pas non plus, mais il y conserve toute son activité biochimique; quand on introduit cette culture après quelques jours dans un autre lait, le ferment Effront s'y développe et vainc le ferment Bertrand déjà affaibli.

Si l'on ensemence le lait *en même temps* avec les deux microbes, c'est régulièrement la jeune culture de microbe Bertrand qui se développe, mais qui succombe ensuite lorsqu'on réensemence dans un nouveau milieu.

1. Action des ferments sur le lait.

On a employé du lait donné comme pur par le commerce après l'avoir écrémé par centrifugation. Dans une de mes expériences, ce lait contenait 4,86 p. 100 de lactose et 2,86 p. 100 de caséine; l'acidité originale du lait, évaluée en acide lactique, était toujours soustraite de l'acidité produite par le ferment, afin que les tableaux donnent directement l'accroissement d'activité. Les données pour les proportions de lactose et pour le rendement sont arrondies en chiffres entiers. Chaque analyse chimique a été précédée d'un ensemencement sur du lait nouveau et les transformations constatées sont marquées dans la dernière colonne (Tableaux I et II). La mort du microbe y est représentée par la lettre M, la coagulation par le signe +.

Interprétation des résultats.

L'acidité produite par le ferment Bertrand (Tableau I) atteint au bout de 4 à 9 jours, suivant la température, son maximum de 2,3 à 2,6 p. 100 d'acide lactique; ce maximum cause en même temps la mort de la bactérie. L'acidité totale correspond toujours à la quantité de sucre disparu, c'est-à-dire que le rendement en acide lactique est toujours de 100 p. 100. Un léger excès constaté est dû à la production de petites proportions d'autres acides (acétique, formique, succinique), qui peuvent être considérés comme des excrétions de la vie protoplasmique.

Tableau I. — **Action du ferment bulgare sur le lait.**

(*Pour* 100 *grammes de lait.*)

AGE de la culture en jours	CASÉINE SOLUBILISÉE		LACTOSE DISPARU		ACIDITÉ APPARUE calculée en ACIDE LACTIQUE		LA CULTURE a-t-elle fait une COAGULATION normale du lait ?
	milli-grammes	p. 100	milli-grammes	p. 100	milli-grammes	sur 100 parties de sucre RENDEMENT	
a) *A la température de* 30 *degrés.*							
2	86	3	—	—	—	—	+
5	—	—	1.958	40	2.115	108	+
8	257	9	2.079	43	2.232	112	+
10	—	—	2.126	44	2.313	109	+
15	289	10	2.063	42	2.196	106	M
19	—	—	2.042	42	2.277	111	M
24	320	11	2.042	42	2.313	113	M
37	—	—	2.126	44	2.313	109	M
92	—	—	2.084	43	2.306	111	M
138	—	—	2.150	44	2.313	107	M
b) *A la température de* 40 *degrés.*							
4	—	—	2.209	45	2.430	110	+
9	—	—	2.361	49	2.502	106	M
16	—	—	2.261	47	2.465	109	M

La transformation en ferment Effront n'a pas été observée, pas même après 138 jours d'étuve ; au début, les cultures jeunes ont toujours donné une coagulation normale, plus tard le ferment n'a pas coagulé du tout.

Le ferment Effront présente des propriétés tout à fait différentes (Tableau II). Cette bactérie fait fermenter le lactose plus lentement et au bout de cinq mois on a trouvé encore la *moitié* du lactose dans le liquide. L'activité, qui atteint bientôt son maximum à 0,5 p. 100, n'augmente pas avec l'âge de la culture. Au début, lorsque l'attaque de la caséine est à peine visible, l'activité formée par la bactérie correspond à 75 p. 100 de sucre fermenté, mais avec l'âge de la culture ce rapport baisse jusqu'à 20 p. 100; c'est peut-être l'ammoniaque, résultant de la destruction de la caséine par le ferment, qui fait diminuer l'activité du liquide en saturant les acides formés.

Tableau II. — **Action du ferment Effront sur le lait.**
(*Pour* 100 *grammes de lait.*)

AGE de la culture en jours	CASEINE SOLUBILISÉE en milligrammes	CASEINE SOLUBILISÉE p. 100	LACTOSE DISPARU en milligrammes	LACTOSE DISPARU p. 100	ACIDITÉ APPARUE calculée en ACIDE LACTIQUE en milligrammes	ACIDITÉ APPARUE calculée en ACIDE LACTIQUE sur 100 parties de sucre RENDEMENT	LA CULTURE a-t-elle fait une COAGULATION normale du lait?
			a) A la température de 30 degrés.				
1	1.750	61	—	—	—	—	+
3	—	—	483	10	360	75	+
7	1.990	69	777	16	504	65	+
12	—	—	1.218	25	504	41	+
16	1.450	51	1.444	30	585	40	+
27	—	—	2.667	55	504	19	+
40	2.630	92	1.759	36	693	39	+
138	—	—	2.932	60	756	26	+

En outre, le microbe ne change pas et, au bout de 138 jours il a encore coagulé du lait nouveau en quelques heures, d'une manière normale.

2. Action des ferments sur le lait additionné de carbonate de calcium.

On s'est servi de lait écrémé contenant 4,86 p. 100 de lactose. Après un temps convenable de séjour à l'étuve, on a vérifié l'acidité du lait surnageant le sel calcaire, et la proportion de carbonate dissoute, dosée au bout de vingt semaines par le titrage, a été calculée en acide lactique.

Avant de procéder à l'analyse du liquide on a transporté la bactérie non seulement dans du lait, mais aussi dans une dissolution de peptone et on a examiné la culture, quant à l'aspect extérieur et à l'aide du microscope à partir du moment où toute la quantité de sucre a disparu dans le lait original, on a fait aussi l'analyse du lait de contrôle, ensemencé avec le ferment Bertrand, au point de vue de la caséine et de l'activité pour vérifier si les propriétés principales des microbes n'ont pas changé.

TABLEAU III. — **Action du ferment bulgare sur le lait additionné de carbonate de calcium.**

(Pour 100 grammes de lait.)

AGE de la culture en jours	LACTOSE DISPARU		ACIDITÉ apparue calculée en acide lactique		RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE			
					dans une solution de PEPTONE	DANS LE LAIT		
						La COAGULATION était-elle normale ?	ACIDITÉ apparue en ac. lact. en milli-grammes	CASÉINE disparue solu-bilisée en p. 100
							Après 5 à 7 jours	
	mill-gr.	p. 100	milli-gr.	sur 100 parties de sucre RENDEMENT	végétation			
A la température de 30 degrés.								
5	3.350	69	**1.809***	—	M	+	2.313	9
8	4.373	90	**1.535**	—	M	+	2.170	9
10	4.606	95	**1.350**	—	M	+	—	—
15	4.861	100	**963**	—	M	+	2.210	10
19	4.861	100	**882**	—	M	+	2.011	8
24	4.861	100	—	—	M	+	1.450	7
30	4.861	100	—	—	M	**	—	—
40	4.861	100	—	—	M	+	1.625	—
92	4.861	100	—	—	M	+	562	5
139	4.861	100	5.298	109	M	M	M	M

* Les nombres en chiffres gras mesurent l'acidité du lait surnageant le carbonate de calcium.

** Coagulation accompagnée d'une forte disparition de caséine; la stérilisation du lait n'était pas suffisante.

Interprétation des résultats.

L'examen du tableau III, qui résume les résultats analytiques obtenus avec le ferment Bertrand, montre qu'en présence du carbonate de calcium cette bactérie fait fermenter le sucre de lait *plus rapidement* et *plus complètement* (la totalité de sucre a disparu en dix jours) qu'en l'absence de ce sel, qui protège le ferment de telle manière qu'il reste vivant trois à quatre mois dans ce milieu complètement débarrassé de sucre. Au bout de ce temps, les coagulations du lait accusées par cette vieille

culture sont de plus en plus retardées et, avec la culture de cinq mois, elles ne se produisent plus. L'aspect des laits caillés a toujours été normal, excepté un cas (voir la culture de 30 jours dans le tableau III), où j'ai obtenu l'attaque de la caséine; mais la cause de ce changement n'a été qu'une stérilisation imparfaite de cette série de tubes. Dans aucun cas, pas même dans les cultures les plus vieilles, on n'a trouvé les voiles si caractéristiques du ferment Effront. Le lait témoin a toujours coagulé en bloc et sans attaque notable de la caséine. L'acidité formée et la quantité de caséine dissoute par la bactérie étaient constantes et correspondaient aux expériences faites à l'Institut Pasteur. Enfin, jamais le ferment Bertrand n'a donné de culture sur une solution de peptone.

Tableau IV. — **Action du ferment Effront sur le lait additionné de carbonate de calcium.**

(*Pour 100 grammes de lait.*)

AGE de la culture en jours	LACTOSE DISPARU		ACIDITÉ apparue, calculée en acide lactique		RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE			
					dans une solution de PEPTONE	DANS LE LAIT		
							Après 5 à 7 jours	
	milli-gr.	p. 100	milli-gr.	sur 100 parties de sucre RENDEMENT	végétation	La COAGULATION était-elle normale?	ACIDITÉ apparue en ac. lact. milli-grammes	CASÉINE disparue solu-bilisée p. 100
			A la température de 30 degrés.					
3	784	16	—	—	+	+	524	69
7	1.407	29	**504***	—	+	+	502	61
12	1.675	34	**423**	—	+	+	—	—
16	1.860	38	**423**	—	+	+	540	65
27	2.147	44	**540**	—	+	+	—	—
40	2.630	54	**387**	—	+	+	—	—
138	2.636	54	**1.665**	63	+	+	420	58
2 ans**	1.867	38	—	—	+	+	—	—

* Les nombres en chiffres gras mesurent l'acidité du lait surnageant le carbonate de calcium.

** La culture dans un tube fermé à ses extrémités.

En examinant les chiffres du tableau IV, nous voyons que la culture d'Effront est possible sans le carbonate de calcium, qui n'exerce pas une influence visiblement favorable ; la fermentation du lactose est toujours lente et incomplète. Dans une culture de deux ans, jaune et claire, où la totalité de la caséine a été solubililisée, j'ai trouvé encore 62 p. 100 de sucre de lait. D'ailleurs, le ferment Effront n'acquiert pas les propriétés du ferment Bertrand en gardant celles des ferments protéolytiques. Les cultures vieilles, même de quelques années, donnent des coagulations très rapides du lait et des végétations excellentes sur les dissolutions de peptone.

(*A suivre.*)

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1914

par Jules VIALA, Préparateur au service antirabique.

Pendant l'année 1914, 373 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur; chez une autre la rage s'est déclarée au cours du traitement; elle n'est pas comptée parmi les personnes traitées.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées. 373
Mort 0
Mortalité, p. 100. 0

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations, depuis l'origine :

ANNÉES	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
1886	2.671	25	0,94 p. 100
1887	2.770	14	0,79 —
1888	1.622	9	0,55 —
1889	1.830	7	0,38 —
1890	1.540	5	0,32 —
1891	1.559	4	0,25 —
1892	1.790	4	0.22 —
1893	1.648	6	0,36 —
1894	1.387	7	0,50 —
1895	1.520	5	0,38 —
1896	1.308	4	0,30 —
1897	1.529	6	0,39 —
1898	1.465	3	0,20 —
1899	1.614	4	0,25 —
1900	1.420	4	0,28 —
1901	1.321	5	0,38 —
1902	1.005	2	0,18 —
1903	628	2	0,32 —
1904	755	3	0,39 —
1905	721	3	0,41 —
1906	772	1	0,43 —
1907	786	3	0,38 —
1908	524	1	0,19 —
1309	467	1	0,21 —
1910	401	0	0,00 —
1911	341	1	0,29 —
1912	395	0	0,00 —
1913	330	0	0,00 —
1914	373	0	0,00 —

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants :

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

*
* *

Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1914 :

ANNÉE 1914	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité (p. 100)	Traités	Morts	Mortalité (p. 100)	Traités	Morts	Mortalité (p. 100)	Traités	Morts	Mortalité (p. 100)
Tableau A. . . .	10	0	0	38	0	0	20	0	0	68	0	0
Tableau B. . . .	7	0	0	44	0	0	51	0	0	102	0	0
Tableau C. . . .	13	0	0	91	0	0	99	0	0	203	0	0
	30	0	0	173	0	0	170	0	0	373	0	0

Au point de vue de leur nationalité, les personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

France	364
Luxembourg	5
Belgique	1
Russie	1
Maroc	2
	373

Répartition par départements des 364 Français traités.

Aisne	5	Meurthe	3
Ardennes	5	Meuse	10
Aveyron	4	Morbihan	2
Cantal	2	Nord	3
Calvados	24	Oise	11
Corrèze	8	Orne	17
Côtes-du-Nord	11	Pas-de-Calais	11
Doubs	9	Pyrénées	2
Eure	3	Rhin (Haut-)	5
Ille-et-Vilaine	15	Saône	2
Indre-et-Loire	8	Sarthe	10
Loire (Haute-)	2	Sèvres (Deux-)	4
Loire-Inférieure	4	Seine-Inférieure	4
Loiret	2	Seine-et-Marne	4
Loir-et-Cher	3	Seine-et-Oise	23
Lot	4	Seine	92
Maine-et-Loire	5	Somme	2
Manche	20	Vienne	5
Marne	5	Vienne (Haute-)	4
Mayenne	8	Yonne	3

PERSONNE PRISE DE RAGE, EN COURS DE TRAITEMENT.

GOUDE (MÉLANIE), douze ans, demeurant à Sion (Loire-Inférieure), mordue le 29 octobre, à la lèvre supérieure, 2 morsures pénétrantes; au front, 2 morsures profondes; au pouce droit, 4 morsures : aucune de ces morsures n'a été cautérisée.

Goude (Mélanie) a été traitée à l'Institut Pasteur du 5 au 10 novembre; les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez elle le 9 novembre. Morte le 12 novembre à l'Institut Pasteur. Le même chien a mordu deux autres personnes, qui ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur, et qui se portent bien. Le chien avait été reconnu enragé par M. Halgand, vétérinaire, à Saint-Père-en-Retz (Loire-Inférieure).

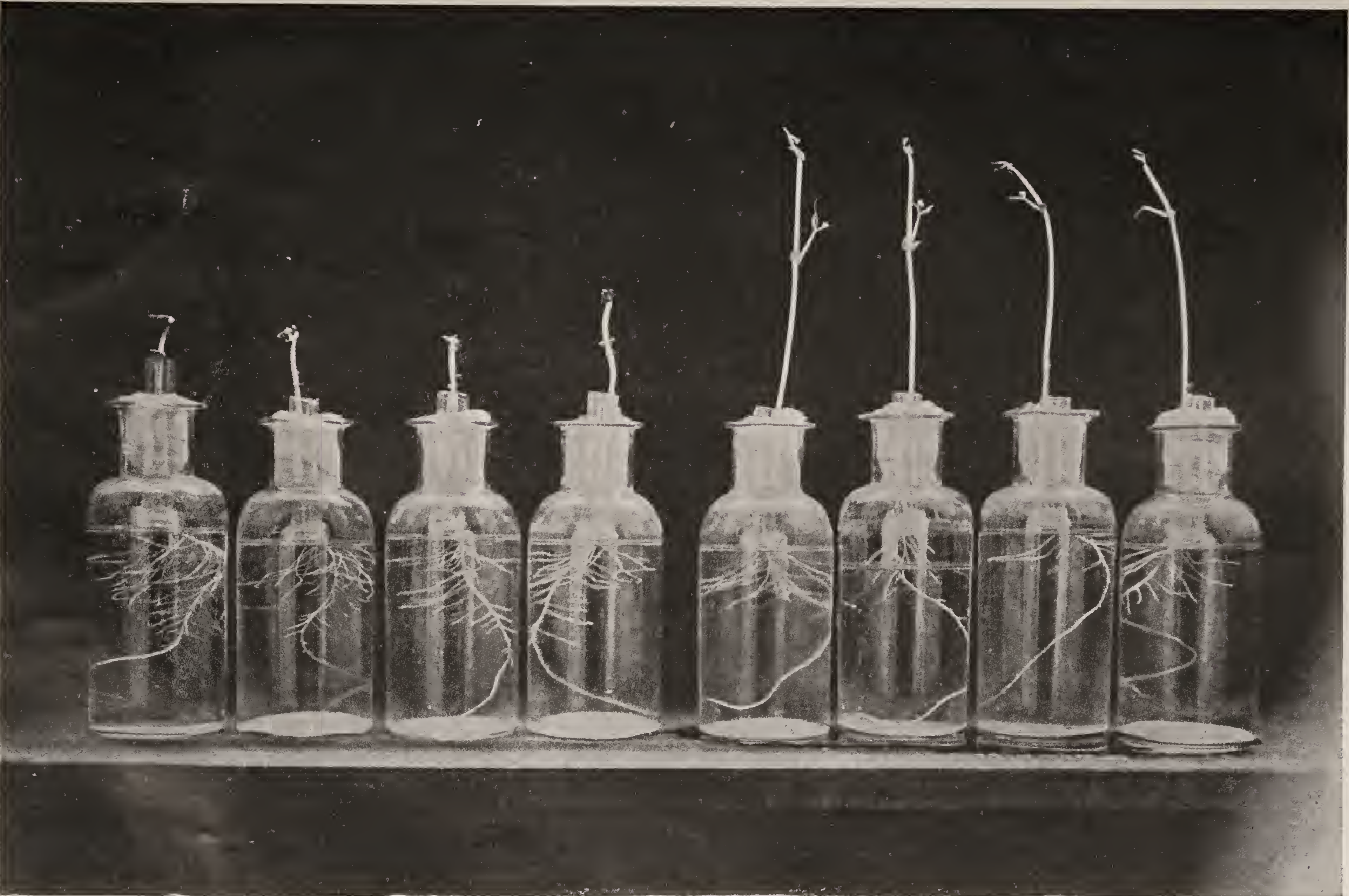
Le Gérant : G. MASSON.

Paris — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.



LUPIN BLANC

Plantes témoins — Plantes soumises à l'émanation



POIS

Plantes témoins — Plantes soumises à l'émanation

29e ANNÉE JUILLET 1915 N° 7

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

HYPOTHÈSE SUR LE PHLÉBOTOME « TRANSMETTEUR » ET LA TARENTE « RÉSERVOIR DE VIRUS » DU BOUTON D'ORIENT

par EDM. SERGENT, ÉT. SERGENT, G. LEMAIRE et G. SENEVET.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

Les notes qui suivent ont été écrites au mois de février 1914, nous ne comptions les publier qu'au terme des recherches expérimentales qu'elles comportent. Un court résumé en a paru dans le numéro du 8 juillet 1914 du *Bulletin de la Société de pathologie exotique*. Une note de MM. E. Chatton et G. Blanc, présentée le 25 juillet à la Société de Biologie, est venue corroborer l'hypothèse et les faits que nous apportions. Nos recherches ayant été arrêtées par la guerre, nous publions telles quelles ces notes écrites il y a un an.

Nous avons incriminé en 1904 les Phlébotomes comme agents de l'inoculation à l'Homme du clou de Biskra (1). Quelques essais de transmission tentés en automne 1904 avec les Phlébotomes et un Culicide, *Grabhamia subtilis*, restèrent infructueux à Biskra et dans la plaine d'El-Outaya, à 30 kilomètres au nord de Biskra, mais les conditions de ces expé-

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LVII, p. 673, 8 avril 1905.

riences n'étaient pas très favorables. En raison des observations épidémiologiques, nous avons persisté à dire que les Phlébotomes devaient être les inoculateurs de la *Leishmania tropica* (1).

Nous trouvâmes dans le livre de Pressat sur le paludisme, paru en 1905 (2), un dessin représentant : « Un petit Diptère suceur de sang, nommé en arabe : *Akhl-ou-eskout*, qui passe à travers les mailles des plus fines moustiquaires. Il vole silencieusement, et ses piqûres provoquent une démangeaison persistante; il semble jouer un rôle important dans la propagation du Bouton d'Orient ». Pressat n'avait pas déterminé le nom de ce Diptère, mais son dessin, fort bien fait, nous permit d'y reconnaître un *Phlebotomus*, comme nous l'indiquâmes dans notre analyse du *Bulletin de l'Institut Pasteur* (3). Le nom d'*Akhl-ou-eskout* (en arabe nord-africain : *Koul-ou-eskout*) qui signifie « mange, et tais-toi », correspond exactement au nom de *pappataci* donné par les Italiens au Phlébotome.

En 1911, Wenyon, après une étude du bouton d'Orient à Bagdad et Alep, arrive à incriminer la Mouche commune, comme vecteur mécanique du virus (hypothèse déjà émise par Row) (4), et comme agent transmetteur plus habituel un Moustique ou le Phlébotome (5). Patton affirme en 1912 qu'à Cambay (Indes) le seul insecte susceptible de convoyer la *Leishmania tropica* est la Punaise des lits, *Cimex rotondatus* (6). Wenyon a obtenu comme Patton le développement des *Leishmania* en *Leptomonas* dans l'intestin des Punaises gorgées de sang, et, de plus, dans l'intestin de *Stegomyia fasciata*, mais il estime que cela ne prouve pas que ces Insectes soient les transmetteurs de la maladie dans la nature, et qu'il s'agit sans doute d'une simple culture de la *Leishmania* en milieu sanguin, opinion également émise par F. Mesnil.

A Biskra la *Stegomyia fasciata* n'existe pas, la Punaise des lits ne semble pas pouvoir y être incriminée. Au contraire, l'abondance des Phlébotomes, au moment où l'on contracte le clou de Biskra, c'est-à-dire en automne (7), la prédominance

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. II, p. 390, 21 juillet 1909, « Nouvelle force donnée à l'hypothèse du *Phlebotomus* propagateur du clou de Biskra. » *Détermination des Insectes piqueurs et suceurs de sang*. O. Doin, 1909, p. 37. « Les Phlébotomes sont très nombreux à Biskra, où j'ai émis l'hypothèse qu'ils propageaient peut-être le bouton de Biskra, mais on les trouve aussi dans tout le reste de l'Afrique du Nord » (Edm. Sergent).

(3) A. Pressat, *Le paludisme et les Moustiques*, Masson, 1905, pl. III, fig. 2.

(2) *Bulletin de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 626, 1905.

(4) R. Row, *Journ. of. british med. Assoc.*, p. 867, 24 septembre 1910. *Proceed. of the Bombay branch of the Brit. Med. Ass.*, 29 janvier 1911.

(5) C. M. Wenyon, *Parasitology*, t. IV, p. 273, 24 octobre 1911, *Journ. of. London Sch. of. trop. Med.*, t. I, parties 2 et 3.

(6) W. S. Patton, *Sc. mem. by Off. of the med. a san. Depart. of India*, nº 50 (new series), Calcutta, 1912.

(7) Les Arabes appellent parfois le clou de Biskra *habb-mta-el-tmer*, le bouton des dattes, parce qu'il apparaît en septembre, au moment où mûrissent les dattes.

des lésions sur les régions découvertes (qui est en faveur d'une inoculation par un Insecte ailé), la multiplicité fréquente des clous sur un même individu (explicable par la façon de piquer des Phlébotomes), toutes ces circonstances s'accordent très bien avec l'hypothèse de la transmission des boutons d'Orient par les Phlébotomes.

Nous avions fait nous-mêmes une objection à notre hypothèse : le clou n'est endémique en Algérie qu'à Biskra, et les Phlébotomes sont très nombreux dans toute l'Afrique du Nord : grandes villes du Tell jusqu'aux hauts étages des maisons modernes, campagnes, Hauts-Plateaux, steppes et Sahara. Ils sont spécialement abondants dans les régions sahariennes; Foley et Leduc les ont étudiés à Beni-Ounif-de-Figuig où le bouton d'Orient n'est pas connu (1).

Cette objection perd beaucoup de sa valeur à la suite de la constatation que l'aire de diffusion du bouton d'Orient est plus étendue en Afrique du Nord qu'on ne le croyait autrefois.

Nous avons fait remarquer (2) que des boutons d'Orient ont été cliniquement signalés à Alger par Brault (3). Nous avons connu des exemples cliniques personnels à Mila (Hauts-Plateaux constantinois). Gros (4) a apporté la première preuve microscopique de l'existence de la *Leishmania tropica* dans une vallée de la côte méditerranéenne (1 cas vérifié au microscope, 3 cas cliniques). Cambillet (5) en même temps en signale un autre cas, vérifié au microscope, près de la mer dans la région de Ténès. Cambillet en a constaté un autre depuis lors, dans les mêmes conditions (6). Enfin Foley, Vialatte et Adde ont montré récemment l'existence d'un foyer endémique de bouton d'Orient à Bou-Anane, dans le Sud-marocain (Haut-Guir), à 10 degrés à l'ouest de Biskra (7). La distribution géographique du bouton d'Orient n'est donc pas limitée à la région de Biskra en Algérie. Il existe deux centres endémiques : Biskra et Bou-Anane, et des cas sporadiques peuvent se présenter sur des

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. V, p. 511, 10 juillet 1912.
(2) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. II, p. 390, juillet 1909.
(3) *Soc. dermat. et syphil. de Paris*, janvier 1899. *Ann. dermatol.*, 1899.
(4) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. II, p. 298, juin 1909.
(5) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. II, p. 388, juillet 1909.
(6) Communication inédite.
(7) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. VII, p. 114, 11 février 1914.

points très lointains et très différents de ces localités sahariennes.

Pour expliquer que toutes les régions infestées de Phlébotomes ne sont pas également infectées de boutons d'Orient, deux hypothèses sont à considérer.

1° Existence, en certains lieux seulement, d'un réservoir de virus pour la *Leishmania tropica*.

2° Aptitude de certaines espèces seulement de Phlébotomes à jouer un rôle dans la propagation du bouton d'Orient.

I. — Réservoir de virus.

Il semble certain que l'Homme ne constitue pas le réservoir de virus de la *Leishmania tropica*. Malgré les intéressantes expériences de Gonder (1), il ne paraît pas probable que le bouton d'Orient puisse être considéré comme une maladie générale, et en tout cas les *Leishmania tropica* ne circulent pas en assez grande quantité dans le sang périphérique, pour fournir un virus suffisant aux Insectes piqueurs. D'autre part, il est rare qu'un clou dure plus d'un an, et puisse conserver ainsi le virus d'une année à l'autre. Enfin, si les Mouches peuvent lécher la sanie de boutons ulcérés, jamais les Insectes piqueurs et suceurs de sang ne le font ; d'ailleurs, cette sanie ne contient toujours que de très rares *Leishmania*. Il semble inadmissible que l'Insecte propagateur s'infecte uniquement en piquant la zone périphérique des boutons croûteux où se trouvent en abondance les *Leishmania*.

Il fallait donc chercher le réservoir de virus parmi les animaux que les Phlébotomes peuvent piquer.

Dès 1841-1843 (2) Rondani pensait que le *Phlebotomus minutus* se nourrit du sang de Vertébrés autres que l'Homme. Eaton, en 1904 (3), rapporte qu'il a trouvé du sang qui n'est pas du sang humain dans l'abdomen d'un Insecte appartenant aux *Phlebotominæ* (du genre *Sycorax*). D'après Lutz et Neiva les Phlébotomes au Brésil piquent le Cheval de préférence au cavalier dans les

(1) *Arch. f. Sch. u. Trop.*, t. XVII, p. 397, 1913.

(2) *Ann. Soc. entomol. de France*, p. 263-267, 12 août 1843, « Si fæminæ abdomine sanguine expleto inveniuntur, ille forsitan ex aliis vertebratis expectus fuit. » (p. 266). Voir aussi : B. Grassi, *Ricerche sui flebotomi. Mem. d. Soc. ital. d. Sc.*, t. XIV, p. 22, 1907.

(3) *Entomologist monthly Magazine*, 2e série, t. XV, Londres, 1904.

lieux inhabités (1). Roubaud observe qu'en Afrique occidentale française, le *Phlebotomus minutus* var. *africanus* vit dans la familiarité d'un Lézard, *Agama colonorum* (2). Des nuées d'Insectes couvrent le corps du Lézard, le piquent, sans être chassés. Aux Indes, Howlett arrive à la conviction que « l'hôte naturel » de *Phlebotomus minutus* est le Gecko [*Hemidactylus gleadovii* et *H. Cocteai* (*Brokii* et *flaviviridis*)] (3). Le Phlébotome préfère se nourrir sur le Gecko que sur l'Homme, et l'auteur n'a trouvé qu'une fois ces Insectes sur un Lézard agamide, et une autre fois sur un Crapaud. Au contraire, il les a vus très souvent se gorger de sang sur les Geckos. A peu près au même moment, Townsend écrit que dans l'Amérique du Sud les Phlébotomes sucent le sang de presque tous les animaux à sang chaud et même des Lézards. Ainsi ils sont à peu près indépendants de l'Homme (4). R. C. Schannon (5) a vu, avec P. Bartsch, de nombreux *Phlebotomus vexator* sur un Serpent dans le Maryland et sur un autre Serpent en Virginie. Il conclut que cet Insecte vit normalement sur les Reptiles. Enfin, une nouvelle observation de Roubaud (6) lui montre la présence constante de très nombreux *Phlebotomus minutus* var. *africanus* sur un Python (de l'espèce *regius*) gardé en captivité au Sénégal; il admet par suite que ce Phlébotome doit être considéré comme un parasite particulier des Reptiles.

En conclusion, des observations qui remontent à Rondani (1840) nous indiquent que les Phlébotomes du groupe *papatasii* semblent piquer surtout l'Homme, tandis que ceux qui appartiennent au groupe *minutus* parasitent les Reptiles, et surtout les Tarentes. Howlett (7) publie une carte montrant que dans le monde entier les limites de la distribution des *Phlebotomus minutus* sont contenues dans celles des *Geckonidæ*. On peut en dire autant de la carte du bouton d'Orient qui ne dépasse pas la carte de la répartition des *Phlebotomus minutus* et des *Geckonidæ*.

Dans l'hypothèse de la propagation du bouton d'Orient par les Phlébotomes, il faut donc penser aux Reptiles, et en particulier aux Tarentes, comme réservoir de virus. Or, à Biskra, notre principal lieu d'études, « la Tarente est très commune dans toutes les maisons » (8). Il restait à déterminer les espèces de Phlébotomes vivant à Biskra.

(1) *Mem. Inst. Osw. Cruz*, t. IV, p. 86, f. I, 1912.
(2) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. VI, p. 126, 12 février 1913.
(3) *Indian Journ. of. med. Research*, t. I, p. 34, nº 1, juillet 1913.
(4) *Science*, t. XXXVIII, p. 194-195, 8 août 1913.
(5) *Proceed. Entom. Soc. Washington*. t. XV, p. 165-167, nº 4, décembre 1913.
(6) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. VII, p. 83, 14 janvier 1914.
(7) *Loc. cit.*
(8) Sériziat, dans son excellente monographie *Études sur l'Oasis de Biskra*, p. 188, Challamel, 1875.

II. — Espèces de phlébotomes de Biskra.

Nous avons signalé, en 1905, que *Phlebotomus papatasii* Scop. était répandu en Algérie de la mer au Sahara. A Beni-Ounif (Sahara Oranais) où Foley l'a signalé en 1908, puis étudié en 1912 avec Leduc, il est très abondant dans les maisons du printemps à l'automne (1). A Biskra, nous avons trouvé 3 espèces de Phlébotomes : 1° *Phlebotomus papatasii*, Scop., fort nombreux, ayant tous les caractères classiques de cet Insecte; 2° *Phlebotomus perniciosus*, Newstead; 3° Un Phlébotome, plus petit, et un peu plus sombre, extrêmement commun. Ce petit Phlébotome, très actif, fait sur les murs de petits vols rebondissants qui ressemblent aux sauts d'une Puce. Les caractères suivants, vérifiés sur 12 exemplaires, 5 mâles et 7 femelles, permettent de l'assimiler à *Phlebotomus minutus* Rondani var. *africanus* Newstead, 1912.

Longueur du corps 1mm5. Couleur sombre. Les poils sont couchés sur l'abdomen.

Antennes. — Le 3e article est un peu plus long que les suivants, mais fort peu.

Palpes. — Les 2e, 3e et 4e articles sont à peu près de la même longueur. Le 3e est un peu plus long et plus fort que les autres. Le 5e est le plus long de tous.

Ailes. — Etroites, à extrémité pointue. La 3e nervure longitudinale les partage en deux parties à peu près égales. La branche supérieure ou antérieure de la 1re fourche de la 2e nervure longitudinale est plus courte que la distance entre les 2 fourches de la même nervure.

Pattes postérieures. — 2mm25 de longueur au maximum; elles mesurent 3 fois la longueur de l'abdomen. Le tarse a à peu près la longueur du tibia.

Armature génitale du mâle. — Sur le crochet supérieur, 4 épines : 2 apicales et 2 subapicales.

III. — Exposé de l'hypothèse.

Le fait que les parties découvertes du corps sont le siège le plus ordinaire des clous de Biskra indique que l'Insecte inoculateur doit être un Insecte ailé.

La prédominance des Phlébotomes par rapport aux autres

(1) *Loc. cit.*

Insectes ailés, dans les localités où nous avons observé des clous de Biskra, nous a fait incriminer ces *Psychodidæ*.

Le fait que certains *Phlebotominæ,* ceux du groupe *minutus*, se nourrissent de préférence sur des Reptiles, nous a fait penser que ceux-ci jouent peut-être le rôle de réservoir de virus.

Un grand nombre des *Phlebotominæ* capturés à Biskra appartiennent précisément à l'espèce *Phlebotomus minutus,* var. *africanus*, qui semble se nourrir normalement sur les Reptiles.

Les Tarentes (*Tarentola mauritanica* L. ou une de ses variétés), très fréquentes à Biskra (1), sont les plus domestiques de tous les Reptiles dans ce pays. D'autre part, si elles sont très nombreuses en été, elles « sont très rares en hiver », dit F. Doumergue, dans son livre classique sur les *Reptiles d'Algérie* (2).

Par conséquent les Phlébotomes doivent avoir, suivant les saisons, une facilité plus grande de piquer, soit la Tarente, soit l'Homme. Howlett (3) pense qu'aux Indes c'est pendant la saison froide que les Phlébotomes se nourrissent sur les Tarentes en hibernation. Pendant cette saison, ils n'attaquent pas l'Homme comme ils l'attaquent pendant la saison chaude et pluvieuse, et pourtant ils sont toujours gorgés de sang frais. On les voit entrer dans les crevasses des murs où ils vont chercher à piquer les Tarentes endormies. Nous savons qu'à Biskra le bouton d'Orient est, comme à Bagdad, à Alep, une maladie saisonnière; on le voit en automne et en hiver, de septembre à mars compris (4). Les données climatologiques indiquent qu'à Biskra la température diminue beaucoup en septembre, c'est aussi le mois où les pluies recommencent et un de ceux où elles sont le plus abondantes de l'année. Pluies en juin, $7^{mm}7$; en juillet, $2^{mm}9$; en août, $3^{mm}4$; en septembre, $20^{mm}4$ (sur une tranche annuelle de $170^{mm}65$) (5). Il y a donc coïncidence entre l'abaissement de la température, la chute des premières pluies,

(1) Sériziat, *loc. cit.*

(2) Il ajoute : « elles hibernent sous les toits, dans les tuyaux de gouttière d'où les fortes pluies les chassent ». *Essai sur la faune erpétologique de l'Oranie, avec des tableaux analytiques et des notions pour la détermination de tous les Reptiles et Batraciens du Maroc, de l'Algérie et de la Tunisie,* p. 81, Oran, 1901.

(3) *Loc. cit.*

(4) D'après le *Calendrier nosologique* de Biskra, de Seriziat, *loc. cit.*, p. 108.

(5) A. Thévenet, *Essai de climatologie algérienne.* Alger, 1896.

le début de l'hibernation des Tarentes et l'observation des cas cliniques. On ne peut pas en tirer des indications sur le moment où ceux-ci ont été contractés. On peut seulement rapprocher la prédominance saisonnière du clou de Biskra de la modification saisonnière des mœurs des Reptiles et des Insectes.

Nous avons donc cherché à vérifier l'hypothèse de la transmission du clou de Biskra par le *Phlebotomus minutus africanus* et celle du réservoir de virus constitué par *Tarentola mauritanica*.

IV. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE.

1° Nous avons voulu d'abord nous assurer que *Phlebotomus minutus africanus* pouvait piquer l'Homme et piquer la Tarente, et chercher ensuite ses préférences en fait de nourriture sanguine.

L'un de nous est attaqué et piqué le 22 octobre 1913, à 21 heures 45, par un *Phlebotomus minutus africanus* qui se gonfle en 3 ou 4 minutes; il ne se détache pas quand on agite la main piquée. La douleur est modérée et ne persiste pas.

Si l'on essaie de se faire piquer par des *Phlebotomus minutus africanus* mis en cage, on éprouve les plus grandes difficultés. Un lot de 40 Phlébotomes est mis à même de piquer sur le bras de l'un d'entre nous le 24 octobre, de 18 heures à 19 heures, puis de 21 heures à 22 heures, aucun ne pique.

Au contraire, si l'on met les *Phlebotomus minutus africanus* dans la cage d'une Tarente, même très éveillée et très mobile, beaucoup la piquent au bout de quelques minutes, et se gorgent de sang. Il est exceptionnel que le lendemain matin on en trouve qui n'aient pas piqué.

Un petit Lézard indéterminé a été piqué aussi très volontiers par les *Phlebotomus minutus africanus*.

Dans une expérience nous avons offert sans succès notre bras à piquer à 3 *Phlebotomus africanus*. On les introduit ensuite dans un flacon avec une grosse Tarente très mobile. En quelques heures, tous trois s'étaient gorgés de sang.

Nous avons donc pu confirmer que le *Phlebotomus minutus*

africanus pique l'Homme et les Reptiles, en l'espèce la Tarente. Il semble préférer la Tarente à l'Homme (1).

2° *Piqûres et inoculations de Phlébotomes.*

Les piqûres de Phlébotomes, l'inoculation sur la peau abrasée, ou sous la peau, du liquide obtenu par leur broyage, pratiquées sur nous-mêmes, sur 2 Singes (dont 1 mort trop tôt pour être utile), sur 6 Souris, sont restées sans résultats positifs. Ces essais, beaucoup trop restreints, seront repris.

3° *Étude des Tarentes.*

Pour commencer, les recherches ont été purement morphologiques. Nous avons voulu faire l'inventaire des parasites des Tarentes de Biskra : 1° par l'examen microscopique direct de leur sang, de leur rate, de leur foie, de leur poumon, de leur moelle osseuse; 2° par l'ensemencement en milieu NNN de quelques gouttes de leur sang et de leur tissu hépatique.

La recherche a porté sur 319 *Tarentola mauritanica* L. (ou variétés), capturées à Biskra en octobre 1913.

A. — L'examen direct du sang ou des organes (coloration au Giemsa) nous a montré les parasites suivants : 1° Très fréquentes Hémogrégarines (44,82 p. 100 des Tarentes sont infectées) (2); 2° Trypanosomes (*Tr. plactydactyli* Catouillard, 1909) (3). Ce trypanosome est toujours rare chez l'animal où on le trouve (5,01 p. 100 des Tarentes sont infectées); 3° Macrofi-

(1) Nous n'avons jamais vu de Tarente essayer de se débarrasser des Phlébotomes courant sur son corps ou en train de sucer son sang. Nous avons examiné l'estomac de plusieurs centaines de Tarentes à Biskra. Ces estomacs contenaient les restes d'Orthoptères, de Coléoptères, de Lépidoptères : 3 fois des Araignées, 1 fois 15 *Argas persicus*, 2 fois des telsons de Scorpions, des peaux de Reptiles, des larves de Muscidés, 1 fois une petite pierre. Une fois une Tarente, de 12 centimètres, avait dans son estomac une autre Tarente de 5 centimètres de longueur. Jamais nous n'avons trouvé de Phlébotomes dans l'estomac.

(2) Ces Hémogrégarines appartiennent pour la plupart à l'espèce *Hæmogregarina plactydactyli* Billet (*Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 9 juin 1900) : mais un certain nombre (le quart environ) répondent à la description, par E. Chatton et G. Blanc (*Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 25 juillet 1914), d'une grosse Hémogrégarine qui doit constituer sans doute une espèce nouvelle [Février 1915].

(3) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXVII, p. 804, 1909.

laires rares (7,31 p. 100 des Tarentes sont infectées). On les rencontre surtout dans le poumon. On ne voit aucune forme rappelant les *Leishmania* (1).

B. — L'ensemencement en NNN du sang et du suc hépatique de 229 Tarentes nous donne 61 fois des cultures (26,6 p. 100).

28 fois des *Leptomonas*,
26 fois des Trypanosomes,
7 fois une culture mixte de ces *Leptomonas* et de ces Trypanosomes.

Toutes ces cultures repiquées en NNN, depuis novembre 1913, ont gardé leurs caractères respectifs typiques. Pour les étudier dans le détail, nous avons ensemencé trois séries de 10 tubes de NNN avec : *a*) un *Leptomonas* de Tarente ; *b*) un *Leptomonas* de *Leishmania* isolé d'un clou de Biskra à la même époque (octobre 1913); *c*) un Trypanosome de Tarente. Nous avons observé ces trois séries de tubes journellement jusqu'à la disparition complète d'éléments figurés reconnaissables dans leur milieu nutritif. Cette disparition est survenue au bout de 2 mois (exactement 64 jours pour les dernières cultures).

a) *Examen des Leptomonas de Tarente obtenus en culture. Préparations à l'état frais.*

Les *Leptomonas* ont constamment la forme d'une flamme de bougie, le flagelle étant attaché à l'extrémité la moins pointue. Le corps est toujours rigide, jamais onduleux comme celui d'un Trypanosome. Cet aspect se retrouve même dans les formes de repos. Jamais de membrane ondulante. Dès le premier jour de culture, les mouvements sont très vifs, et les *Leptomonas* de toute taille traversent vivement le champ du microscope. La division longitudinale s'opère dès les premiers jours jusqu'au 18e environ. Des formes de repos rondes apparaissent dès la 2e semaine. Des formes granuleuses se montrent au bout de 4 semaines. Au 40e jour, il y a encore un certain nombre de formes bien mobiles, mais la désintégration granuleuse s'accentue; le 64e jour il n'y a plus de formes mobiles.

Préparations colorées. — Le noyau est central, ovalaire. Le blépharoplaste, en bâtonnet, ou rond, est toujours séparé du noyau, et toujours situé entre celui-ci et l'extrémité antérieure du corps. Il est souvent un peu latéral. Il n'est jamais accolé au noyau, même dans les formes de repos ovalaires ou rondes. Il ne s'en rapproche pas non plus au cours de la division longitudinale. Pas de membrane ondulante. Extrémité postérieure du corps effilée. Longueur du corps : de 9 à 15 μ. Le flagelle est plus court ou plus long que le corps.

(1) Nous avons trouvé chez 3,44 p. 100 des Tarentes les formes décrites sous le nom de *Pirhemocyton tarentolæ* (*Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 17 octobre 1914), par E. Chatton et G. Blanc [Février 1915].

b) *Examen de Leptomonas provenant de Leishmania tropica isolés à la même époque* (octobre 1913) *d'un clou de Biskra.*

Evolution classique des *Leptomonas* de *Leishmania.* D'autre part, cette évolution sous toutes ses formes ne diffère en rien de l'évolution contemporaine, dans des tubes du même milieu, des *Leptomonas* de Tarentes : même forme, même structure, mêmes dimensions, même mobilité, même période de division pendant les deux premières semaines, même apparition de formes rondes de repos dans la deuxième semaine, même début de dégénérescence granuleuse au bout de trois semaines. Au 60e jour, il n'y a plus d'éléments reconnaissables.

C. — M. Wenyon a décrit un *Herpetomonas* (nous dirions *Leptomonas*) chez le *Phlebotomus* à Alep (1). La longueur du corps de ce *Leptomonas* est de 15 à 25 μ, tandis que dans nos cultures le corps des *Leptomonas*, soit de Tarente, soit de clou de Biskra, a de 9 à 15 μ de longueur. Les individus qui dépassent cette taille sont rares.

c) *Examen de Trypanosomes obtenus dans les cultures de sang de Tarentes. Préparations à l'état frais.*

Les Trypanosomes ont des formes de repos piriformes, très effilées d'un bout, pleinement arrondies de l'autre bout. Celui-ci, lors d'un repiquage, s'étire en flagelle, une forte membrane ondulante se dessine, les mouvements du flagelle deviennent de plus en plus vifs les jours qui suivent, mais n'arrivent pas à déplacer le corps du Trypanosome. Celui-ci ne devient mobile qu'après une semaine environ. Le corps du Trypanosome est toujours incurvé. Au bout d'une dizaine de jours apparaissent de très petits Trypanosomes, fort mobiles ainsi que des formes intermédiaires. Les petites formes seules sortent du champ, les moyennes et les grosses agitent seulement leur flagelle, et leur corps ondule sans se déplacer. Au bout de 4 semaines, les formes de repos piriformes ou rondes apparaissent. Au bout de 5 semaines, les flagelles disparaissent peu à peu. Au 50e jour, il n'y a plus que les membranes ondulantes qui soient mobiles. Les Flagellés se désintègrent en masses granuleuses. Le 64e jour, il n'y a plus une forme intacte.

Préparations colorées. — Les formes de repos ont toutes la structure de *Crithidia*, le blépharoplaste accolé au noyau. Les formes qui deviennent flagellées continuent à avoir la structure de *Crithidia*, puis le blépharoplaste émigre vers l'extrémité postérieure du corps et l'aspect du Trypanosome vrai se dessine. La longueur du corps des Trypanosomes varie beaucoup, entre 6 et 25 μ.

En résumé, il y a ressemblance parfaite entre les *Leptomonas* de Tarente et les *Leptomonas* de clou de Biskra. Aucun de ces *Leptomonas* ne prend à aucun moment de sa vie en culture l'un des aspects du Trypanosome de Tarente, et d'autre

(1) *Journ. of the Lond. Sch. of Trop. med.*, t, I, p. 2.

part ce Trypanosome ne passe à aucun moment de son évolution culturale par une forme ressemblant à un *Leptomonas*. Donc les *Leptomonas* de Tarente, semblables aux *Leptomonas* du clou de Biskra, n'ont rien à faire avec les *Trypanosomes* de culture des Tarentes. Ces Trypanosomes sont sans doute la forme de culture de *Trypanosoma platydactyli* Catouillard. Les *Leptomonas* de Tarente correspondent donc à autre chose. Représentent-ils la forme de culture du virus *Leishmania tropica* chez la Tarente ?

Les recherches expérimentales répondront à cette question. Elles sont en cours d'exécution :

Inoculation à trois hommes, par scarification, de cultures de *Leptomonas* de Tarente.

Inoculation à des Singes, par scarifications de la peau, ou sous la peau, des mêmes cultures.

Inoculation à des souris dans les veines de la queue, ou dans les sinus caverneux, suivant le procédé de Pettit (1), de façon à tâcher de reproduire les lésions obtenues par Gonder par inoculation intraveineuse ou intrapéritonéale à la Souris de culture de *Leptomonas* de *Leishmania* (2). Des Souris témoins ont été inoculées en même temps avec des cultures de notre *Leptomonas* de clou de Biskra (3).

4° *Témoins.*

Des recherches de comparaison ont été commencées également sur des Tarentes et des Phlébotomes provenant de régions où le bouton d'Orient n'est pas endémique. On ne peut pas affirmer qu'il en est absent, puisque des cas sporadiques ont

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXIV, p. 11, 4 janvier 1913.

(2) *Arch. f. Sch. u Trop.*, t. XVII, p. 397, 1913.

(3) Souris sacrifiées 4 mois plus tard : pas de lésions extérieures. Quelques-unes ont la rate grosse. — Sur 27 Souris inoculées avec des *Leptomonas* de Tarentes, 2 montrent à l'examen direct du foie ou de la rate des formes pouvant ressembler à des *Leishmania*. Les ensemencements de la rate et du foie ne donnent pas de culture. — Sur 6 Souris *témoins* inoculées dans les veines ou dans le péritoine avec des *Leptomonas* de clou de Biskra, 5 montrent une infection généralisée à l'autopsie pratiquée 4 mois après l'inoculation : 3 fois la rate et le foie contenaient des parasites, 2 fois la rate seule [juillet 1914].

été trouvés en pays réputés indemnes quand on s'est mis à les chercher.

A Beni-Ounif-de-Figuig, le bouton d'Orient est inconnu. Les Phlébotomes y sont extrêmement abondants (1). Sur 203 exemplaires étudiés, 202 appartiennent à l'espèce *Phlebotomus papatasii*, on n'y a capturé qu'un seul *Phlebotomus minutus africanus* (mâle). Sur 6 Tarentes examinées en hiver 1913, 2 ont donné, après ensemencement de leur sang sur NNN, des *Leptomonas* analogues à ceux des Tarentes de Biskra.

Un programme de recherches comparatives est établi pour Beni-Ounif, localité indemne de *Leishmania tropica*, et pour Bou-Anane, centre endémique de bouton d'Orient, dans un pays analogue à la région de Figuig, sous la même latitude et à une altitude équivalente.

Résumé.

Nous avons réuni un certain nombre de faits qui plaident en faveur du rôle de *Phlebotomus minutus africanus* dans la transmission du clou de Biskra, et n'en relevons aucun qui le contredise. Nous avons émis l'hypothèse qu'étant données les mœurs de ce Phlébotome, on pouvait supposer que les Vertébrés dont il est le parasite normal, c'est-à-dire les Reptiles, et, plus particulièrement, les Tarentes ou Geckos, *Tarentola mauritanica* L., constituent le réservoir de virus du clou de Biskra. C'est dans cette voie que nous continuerons l'étude expérimentale commencée. A l'heure actuelle, celle-ci nous a permis de constater que l'ensemencement des organes de Tarentes de Biskra donnait des cultures pures d'un *Leptomonas* semblable aux *Leptomonas* des cultures du bouton d'Orient. L'intérêt du fait vient de ce que les cultures de *Leptomonas* obtenues jusqu'ici d'organes de Vertébrés provenaient toujours de *Leishmania* parasitant ces Vertébrés.

Février 1914.

P.-S. — Peu après la communication de notre note préliminaire, qui résumait le 8 juillet 1914 les pages ci-dessus (2),

(1) H. Foley et H. Leduc, *loc. cit.*
(2) *Bull. Soc. path. exot.*, t. VII, p. 577-579.

E. Chatton et G. Blanc ont signalé le 25 juillet (1) des parasites qu'ils ont trouvés chez un Gecko (*Tarentola mauritanica*) sur 8 examinés à Metlaoui (Tunisie). Ce sont « des corps leishmaniformes qui n'existent que dans les hématoblastes ». Cette constatation vient appuyer notre hypothèse et l'on pourrait penser que les cultures de *Leptomonas* que nous avons obtenues proviennent de ces corps leishmaniformes.

Les mêmes auteurs ont décrit encore un autre nouveau parasite chez *Tarentola mauritanica* (2). Ce parasite (*Pirhemocyton tarentolæ* n. g., n. sp.), qui présente des analogies avec les Piroplasmes, a été trouvé chez un Gecko sur 3 de Matmata, et chez 2 sur 40 de Metlaoui.

Nous n'avons pas vu les corps leishmaniformes chez les 319 *Tarentola* de Biskra dont nous avons examiné les principaux organes. Nous avons trouvé onze fois chez elles des formes répondant à la description de *Pirhemocyton tarentolæ.*

Les cultures de *Leptomonas* obtenues du sang des Tarentes, l'existence des corps leishmaniformes de Chatton et Blanc dans les hématoblastes de Tarentes seraient en faveur de notre hypothèse : Phlébotome : propagateur et Tarente : réservoir de virus du clou de Biskra. Ces recherches arrêtées par la guerre paraissent mériter d'être poursuivies quand les événements le permettront.

Février 1915.

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, p. 430-433.
(2) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, p. 496-498, 17 octobre 1914.

RECHERCHES BIOLOGIQUES SUR L'ÉOSINOPHILE

DEUXIÈME PARTIE

PROPRIÉTÉS PHAGOCYTAIRES ET ABSORPTION DE PRODUITS VERMINEUX

par M. WEINBERG et P. SÉGUIN.

(Avec les planches VI et VII.)

Dans notre précédent mémoire (1), nous avons essayé d'établir les lois de la chimiotaxie de l'éosinophile. Ces premières recherches nous ont permis d'élaborer une technique pour provoquer à coup sûr une éosinophilie locale considérable dans un point quelconque de l'organisme. C'est grâce à ce procédé que nous avons été à même d'étudier en détail les propriétés phagocytaires du leucocyte qui nous intéresse.

Les propriétés phagocytaires de l'éosinophile ont été notées pour la première fois en 1895 par Mesnil (2), qui a observé que les éosinophiles des vertébrés inférieurs (lézard, grenouille) sont capables d'englober la bactéridie charbonneuse et le B. de la septicémie des souris. Les bacilles charbonneux subissent même, dans les éosinophiles du lézard, un début de digestion et se transforment en bâtonnets acidophiles.

Nattan-Larrier et Parvu (3) (1909) ont étudié *in vitro* les propriétés phagocytaires des éosinophiles vis-à-vis du bacille typhique et du staphylocoque, en utilisant le sang de trois malades atteints de filariose, et qui renfermait un fort pourcentage d'éosinophiles (31, 46, 43 et 46, 60 p. 100). Dans leurs expé-

(1) Ces *Annales*, t. XXVIII, p. 470, mai 1914.

(2) MESNIL, Sur le mode de résistance des vertébrés inférieurs, etc... *Annales de l'Institut Pasteur*, t. IX, n° 5. Mai 1895, p. 301-347, pl. V.

(3) NATTAN-LARRIER et PARVU, Recherches sur le pouvoir phagocytaire des polynucléaires éosinophiles. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 3 avril 1909, p. 574.

riences, les éosinophiles englobaient les microbes, mais moins énergiquement que les neutrophiles.

Achard, Ramond et Foix (1), en 1909, ont constaté que, dans le sang normal, les éosinophiles phagocytent très faiblement les spores de *Monilia albicans*. Les myélocytes éosinophiles du sang, chez un malade atteint de leucémie myéloïde, se sont montrés dépourvus de propriétés phagocytaires. Par contre, dans un épanchement pleural riche en éosinophiles (41 p. 100 d'éosinophiles contre 7 p. 100 de neutrophiles) l'activité phagocytaire des éosinophiles était supérieure à celle des neutrophiles.

Il faut encore citer Pascheff (2) (1911) qui a signalé, dans des frottis de pus de conjonctivite, quelques staphylocoques englobés par les éosinophiles. Cet auteur a fait cette constatation intéressante que l'on rencontrait des microbes phagocytés aussi bien par les éosinophiles mononucléaires que par ceux à noyau segmenté.

Ces faits isolés ne donnaient cependant pas une notion suffisament précise sur l'importance des propriétés phagocytaires de l'éosinophile, ni sur les conditions exactes dans lesquelles elles se manifestent. Nous avons essayé de combler cette lacune.

I. — PROPRIÉTÉS PHAGOCYTAIRES DE L'ÉOSINOPHILE « IN VITRO »

Nous avons d'abord étudié *in vitro* les propriétés phagocytaires des éosinophiles du cobaye vis-à-vis de :

1° Substances inertes,
2° Microbes divers,
3° Protozoaires,
4° Globules rouges.

Voici exactement la technique suivie :

Pour pratiquer nos expériences, nous avons choisi des cobayes neufs à éosinophilie péritonéale spontanée aussi importante que possible. Nous savons que, dans les exsudats de tels

(1) Achard, Ramond et Foix, Sur l'activité des cellules éosinophiles. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 24 avril 1909, p. 611.

(2) Pascheff, Recherches sur l'éosinophilie locale oculaire. *Folia. Hæmat.*, *Arch.*, 1911, t. XI, p. 430, pl. X.

animaux, on rencontre fréquemment une grande abondance d'éosinophiles (de 20 à 60 p. 100) à noyau, en général, bilobé ou segmenté, quelquefois mononucléés ou à noyau incisé, associés à des cellules lymphoïdes (monocytes, lymphoïdocytes) à l'exclusion le plus souvent de toute autre forme de leucocytes granuleux.

On prélève quelques gouttes d'exsudat, en ponctionnant aseptiquement le péritoine d'un cobaye avec une pipette effilée. On mélange dans un verre stérile 3 gouttes d'exsudat et une goutte d'une émulsion préparée en diluant dans de l'eau physiologique stérilisée les corps phagocytables (poussières, microbes, cellules végétales et animales, etc...); on reprend le mélange dans une pipette capillaire que l'on ferme à la veilleuse d'un bec de Bunsen, et que l'on porte dans une étuve réglée à 38-39 degrés. Après une heure, on fait des frottis que l'on colore par la méthode de Pappenheim, avec les modifications que nous avons déjà indiquées dans notre précédent mémoire.

Les éosinophiles englobent les poussières inertes (noir animal finement pulvérisé). Ces poussières sont tantôt comprises entre les granulations (pl. VI, fig. 1), tantôt renfermées dans des vacuoles (pl. VI, fig. 2).

La planche VI montre très nettement que tous les microbes que nous avons utilisés dans nos expériences : staphylocoque (fig. 3, 4 et 5), sarcine jaune (fig. 6), streptocoque (fig. 7), gonocoque (fig. 8 et 9), méningocoque (fig. 10 et 11), *B. subtilis*, *B. anthracis* (fig. 12), *B. coli*, B. typhique (fig. 13 et 14), B. diphtérique (fig. 15 et 16), B. tuberculeux (fig. 17, 18, 19, 20), *Spirochæta gallinarum* (fig. 25 et 26) sont phagocytés par les éosinophiles, aussi bien mononucléaires que polynucléaires; c'est-à-dire aussi bien par les éosinophiles de l'exsudat péritonéal venus du sang que par les éosinophiles mononucléaires d'origine locale.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le staphylocoque, la sarcine, le gonocoque, le B. typhique, le *B. coli* et le B. tuberculeux (1).

(1) Pour colorer les cellules contenant le B. tuberculeux nous avons utilisé la technique suivante : Les frottis de cellules, rapidement desséchés par agitation, sont fixés par l'alcool méthylique (10 minutes). On colore les microbes par le Ziehl à chaud; on fait agir le chlorhydrate d'aniline, on décolore par l'alcool absolu, on lave à l'eau distillée. Les granulations des

Les microbes englobés sont tantôt disséminés dans le protoplasme, tantôt renfermés dans des vacuoles digestives (pl. VI, fig. 13, 14, 16).

Nous avons pu suivre pour certaines espèces microbiennes les différentes étapes de la digestion intracellulaire (*B. subtilis*, *B. coli*). C'est ainsi que le *B. subtilis* englobé perd très rapidement la propriété de prendre le Gram. Il devient granuleux; les grains chromatiques se localisent surtout aux deux extrémités du bâtonnet. Puis, le protoplasme du microbe, qu'il s'agisse du *B. subtilis* ou du *B. coli*, prend une teinte bleu clair, passe au bleu très pâle et finalement devient acidophile. A partir de ce stade, les microbes sont difficilement observables et disparaissent au milieu des granulations éosinophiles.

Les éosinophiles phagocytent très facilement les spores du muguet (*Monilia albicans*) (pl. VI, fig. 21 et 22) (1) et avec plus d'intensité encore celles de *Sporotrichum Beurmanni* (pl. VI, fig. 23 et 24).

Ils en sont quelquefois bourrés à en éclater. Les noyaux des phagocytes sont comprimés et déformés par les spores, et les granulations sont tassées dans les espaces protoplasmiques réduits, laissés libres par les cellules englobées.

Les éosinophiles phagocytent également les protozoaires. En diluant dans de l'eau physiologique une parcelle de matières fécales provenant du cæcum d'un cobaye, et dans lesquelles pullulait un petit flagellé piriforme à deux cils antérieurs (*Heteromita caviæ*) et en ajoutant une goutte de cette dilution à quelques gouttes d'exsudat péritonéal riche en éosinophiles, nous avons pu observer quelques figures de phagocytose. Nous en avons figuré trois exemples (pl. VI, fig. 27, 28 et 29). On voit que le protozoaire est non seulement englobé, mais encore par-

leucocytes sont colorées par le May-Grünwald dilué de moitié dans l'eau distillée (1 minute) et les noyaux prudemment renforcés dans un bain de Giemsa (15 gouttes pour 10 cent. cubes d'eau distillée) pendant 1 minute. Les granulations des éosinophiles viennent en rose très pâle et laissent très facilement apercevoir entre elles les bacilles acido-résistants.

(1) SCHAEFER-HIEBER (Ueber Phagocytose bei akuten Infektions-Krankheiten. *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, 1913, p. 24) a étudié *in vitro* dans trois cas le pouvoir phagocytaire comparé des différentes variétés leucocytaires du sang vis-à-vis des spores de *Monilia albicans*. Dans l'un des cas, les éosinophiles n'ont pas phagocyté. Dans un second cas, une seule spore, sur 100 englobées, a été phagocytée par un éosinophile. Dans le troisième cas, deux spores sur 100 ont été trouvées dans l'intérieur d'éosinophiles.

tiellement digéré par l'éosinophile. Son protoplasma est devenu globuleux et son noyau se colore difficilement.

Nous avons répété ces expériences avec des trypanosomes (*Trypanosoma Evansi*) du surra pris sur souris infestée (pl. VI, fig. 31 et 32). Les trypanosomes très altérés se reconnaissent encore à leur noyau au voisinage duquel on aperçoit le blépharoblaste.

Il faut ajouter qu'il est nécessaire pour réussir cette expérience d'avoir un exsudat très riche en éosinophiles et de chercher avec soin les figures de phagocytose qui sont toujours rares.

Les éosinophiles englobent également les globules rouges (cobaye, souris, mouton, poule). Les figures de phagocytose, bien que peu communes, ne laissent aucun doute à cet égard. Les globules rouges englobés par les éosinophiles changent de teinte. Leur protoplasma, de rouge brique (pl. VI, fig. 33), devient jaune pâle (fig. 34) et petit à petit disparaît dans une grande vacuole claire (fig. 30). Les érythrocytes de poule sont également digérés par les éosinophiles ; leur noyau perd rapidement ses propriétés tinctoriales. Il passe du bleu foncé au jaune vert (fig. 35) et finit par disparaître.

Nous n'avons jamais observé, au cours de cette digestion, une désagrégation des globules rouges en granulations éosinophiles.

II. — PROPRIÉTÉS PHAGOCYTAIRES DE L'ÉOSINOPHILE « IN VIVO »

Les propriétés phagocytaires de l'éosinophile se manifestent non seulement *in vitro*, mais aussi *in vivo* ; et cela aussi bien dans les cavités séreuses que dans le tissu conjonctif sous-cutané et le sang circulant.

A. — Phagocytose dans la cavité péritonéale du cobaye.

Pour observer la phagocytose dans la cavité péritonéale, on choisit des cobayes neufs dont l'exsudat est riche en éosinophiles. On peut également provoquer artificiellement une éosinophilie péritonéale considérable chez des animaux préparés par un produit parasitaire quelconque ou par des injections répétées de sérum, en suivant la technique indiquée dans notre premier mémoire.

Ayant choisi un cobaye convenable pour l'expérience, on lui injecte dans la cavité péritonéale 1 à 2 cent. cubes d'une émulsion en eau physiologique d'une culture sur gélose de *B. subtilis* ou de *B. coli*.

L'étude des frottis d'exsudat montre que, dans ces conditions, les éosinophiles ont englobé déjà au bout de 15 minutes un grand nombre de microbes. A ce moment, on ne rencontre qu'un pourcentage relativement peu élevé de polynucléaires pseudo-éosinophiles, attirés par l'injection de culture microbienne : ces cellules ne manifestent alors que de faibles propriétés phagocytaires. Les polynucléaires pseudo-éosinophiles qui viennent d'émigrer dans le liquide péritonéal se trouvent d'abord mal à l'aise dans ce nouveau milieu ; il leur faut un certain temps pour s'y adapter et recouvrer leur pouvoir phagocytaire normal.

La figure 1 de la planche VII est un exemple de phagocytose *in vivo* de *B. subtilis* par les éosinophiles dans la cavité péritonéale du cobaye. Ces leucocytes, bourrés de microbes, qui sont pour la plupart contenus dans des vacuoles et se présentent à tous les stades de la digestion intracellulaire décrite précédemment, sont accompagnés d'un nombre à peu près égal de polynucléaires pseudo-éosinophiles qui viennent d'arriver dans la cavité péritonéale; aucun des polynucléaires figurés dans le dessin n'a englobé de microbes.

Si donc on injecte dans un péritoine riche en éosinophiles une quantité de microbes (non virulents) qui ne soit pas excessive, tous les microbes seront englobés et digérés avant l'intervention des polynucléaires. Ce fait montre que, lorsqu'il existe une éosinophilie préétablie dans une cavité séreuse, les éosinophiles peuvent jouer un rôle efficace dans la protection de l'organisme contre l'infection microbienne.

Nous avons également observé *in vivo* la phagocytose des globules rouges par les éosinophiles dans la cavité péritonéale du cobaye.

Le plus bel exemple que nous ayons constaté a été réalisé dans les conditions suivantes : voulant provoquer dans le péritoine du cobaye une éosinophilie locale par des injections répétées et espacées de sérum de cheval, nous avons eu l'occasion d'étudier l'exsudat de quelques cobayes dans le cours de

la première heure qui suivait la dernière injection préparante. Un de nos cobayes, chez lequel nous avions provoqué une légère hémorragie locale lors de l'injection de sérum, présentait, une heure après cette injection, une forte éosinophilie. Les éosinophiles, dans ces conditions, se sont montrés particulièrement aptes à englober et à digérer les globules rouges de cobaye. La figure 2 de la planche VII représente un champ microscopique d'une préparation qui se rapporte à ce cas, et où l'on ne compte pas moins de 6 éosinophiles phagocytant des globules rouges. Un éosinophile renferme même deux hématies. On observe de plus tous les stades de la digestion intraleucocytaire du globule rouge, telle que nous l'avons décrite à propos de la phagocytose des hématies *in vitro*.

Nous pensons que, dans ce cas particulier, le sérum de cheval a favorisé la phagocytose des globules rouges par les éosinophiles, car ces leucocytes ont manifesté des propriétés érythrophagiques beaucoup moins intenses, lorsque nous avons injecté directement dans la cavité péritonéale de cobayes à forte éosinophilie locale des globules rouges de cobayes ou des globules rouges d'espèce étrangère.

Manceaux (1) a eu l'occasion d'observer chez l'homme, dans un cas de pleurésie hémorragique, des images indiscutables de phagocytose de globules rouges par les éosinophiles.

Ces faits nous permettent d'expliquer comment quelques auteurs ont pu supposer que les globules rouges pouvaient prendre naissance dans le protoplasma des éosinophiles. Cette hypothèse a été soutenue par Banwart (2) (1892), Hoyer (3) (1894), Pschewasky (d'après Hoyer), Semmler (4) (1894). Il n'est pas douteux que ces auteurs ont observé des images de phagocytose qu'ils ont méconnues. Ajoutons enfin que Noorden (5) a décelé, dans le cytoplasme de cellules éosinophiles provenant

(1) Manceaux, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 18 octobre 1913, p. 240.

(2) Banwart, Untersuchungen über die Regenerationen der Blütkörperchen, *Inaug. Dissert. Dorpat*, 1892.

(3) Hoyer, Sitzungsberichte der russichen med. *Gesellschaft an der Universität Warschau*, 5 nov. 1894, n° 48.

(4) Semmler, Ueber die Faserstoffbildung in Amphibien und Vogelblut. *Inaug. Dissert. Dorpat*, 1894.

(5) Noorden, Beiträge zur Pathologie der Asthma bronchiale. *Zeitschrift f. klinische Medicin*, Bd XX, 1892, p. 98 à 106.

de crachats d'asthmatiques, de l'hémosidérine. Ce fait n'est pas pour surprendre, puisque nous avons indiqué plus haut que les globules rouges se dissolvent complètement dans le protoplasma des éosinophiles.

B. — Phagocytose dans le tissu conjonctif sous-cutané du cobaye.

Nous avons choisi, pour étudier la phagocytose des microbes par les éosinophiles dans le tissu cellulaire sous-cutané, des cobayes à forte éosinophilie sanguine. On injecte sous la peau de l'abdomen de ces animaux, en plusieurs points différents, 2 cent. cubes d'extrait aqueux de *Tænia perfoliata*. Le lendemain, on injecte exactement aux mêmes endroits 1 cent. cube d'une émulsion en eau physiologique de *B. subtilis*. Les biopsies pratiquées un quart d'heure, une demi-heure, une heure après l'inoculation ont montré que les éosinophiles attirés dans le tissu cellulaire à la suite de l'injection de produit parasitaire pratiquée la veille, commencent à phagocyter les microbes avant que les polynucléaires pseudo-éosinophiles, que ceux-ci font affluer en masse, ne soient sortis des vaisseaux. Les polynucléaires semblent par contre beaucoup plus actifs dans le tissu conjonctif qu'à leur arrivée dans l'exsudat péritonéal. Ils commencent à englober les microbes dès leur sortie des vaisseaux. Nous n'avons pas noté le stade d'inhibition temporaire indiqué plus haut dans le cas de la phagocytose intrapéritonéale.

Nous avons expérimenté également avec le *B. coli* chez un cobaye préparé par une série d'injections d'extrait de *Tænia perfoliata* et qui présentait une forte éosinophilie sanguine. Nous avons déterminé une éosinophilie sous-cutanée considérable chez ce cobaye et 24 heures après nous lui avons injecté du *B. coli* sous la peau. Cette expérience nous a donné les mêmes résultats que la précédente.

C. — Phagocytose dans le sang circulant du cobaye.

Lorsqu'on injecte des microbes (*B. coli*) dans la veine d'un cobaye, les phénomènes observés diffèrent suivant que l'éosinophilie sanguine est légère ou très intense. Si les éosinophiles

sont peu nombreux dans le sang, peu de microbes sont englobés par ces cellules; par contre, la phagocytose éosinophilique est très intense, lorsque l'éosinophilie sanguine atteint un très fort pourcentage.

Chez un cobaye dont l'éosinophilie sanguine était montée exceptionnellement à 80 p. 100 à la suite d'une série d'injections de produit parasitaire, six minutes après l'injection de 1 cent. cube d'une émulsion de *B. coli* dans la veine, nous n'avons trouvé que fort peu de polynucléaires pseudo-éosinophiles ayant englobé des microbes, alors que les éosinophiles contenaient presque tous des bacilles phagocytés, présentant les différents stades de la digestion intracellulaire. Les microbes libres dans le sang étaient exceptionnellement rares.

Les trois séries d'expériences que nous venons d'exposer montrent que les éosinophiles peuvent dans l'organisme se substituer aux polynucléaires et jouer dans certaines conditions le rôle de véritables phagocytes. Leur intervention est particulièrement active lorsqu'ils préexistent seuls ou en majorité au point de pénétration du microbe. Leur action est continuée par les polynucléaires attirés en masse par l'injection microbienne.

III. — INHIBITION DE LA PHAGOCYTOSE PAR LE LIQUIDE HYDATIQUE

Nous avons essayé d'utiliser dans des expériences de phagocytose l'exsudat éosinophilique d'un cobaye qui avait reçu 4 heures auparavant 10 cent. cubes de liquide hydatique dans le péritoine. Dans ces conditions, les éosinophiles se sont montrés incapables de phagocyter *in vitro* les spores de *Sporotrichum Beurmanni*, alors que les autres variétés de leucocytes avaient conservé toute leur activité phagocytaire. Nous nous sommes demandés si, dans ce cas, les propriétés phagocytaires de l'éosinophile n'avaient pas été inhibées par l'action directe et spécifique du liquide parasitaire sur cette variété de leucocyte.

Nous avons entrepris une série d'expériences pour vérifier cette hypothèse. Nous avons observé tout d'abord que les microbes dilués dans du liquide hydatique étaient phagocytés

in vitro par les éosinophiles aussi facilement que les microbes dilués dans de l'eau physiologique.

Voici les résultats d'une expérience qui se rapporte aux spores de *Sporotrichum Beurmanni* :

Une goutte d'émulsion de spores en eau physiologique est ajoutée d'une part à III gouttes d'exsudat et à I goutte d'eau physiologique et d'autre part à III gouttes d'exsudat et à I goutte de liquide hydatique de mouton.

Les deux mélanges sont recueillis chacun dans 1 pipette capillaire qui est fermée à la veilleuse et portée à l'étuve à 38 degrés, pour 1 heure. Au bout de ce temps, l'étude des frottis donne les résultats suivants :

MÉLANGES	ÉOSINOPHILES contenant des spores.	ÉOSINOPHILES ne contenant pas de spores.	NOMBRE DE SPORES englobées par les 100 premiers éosinophiles comptés.
I. *Mélange* : Spores, exsudat, eau physiologique.	21	79	25
II. *Mélange* : Spores, exsudat, liquide hydatique.	20	80	26

Le résultat de l'expérience est tout différent, lorsqu'on a soin de laisser les cellules au contact du liquide hydatique à 37 degrés pendant une heure, avant d'ajouter les spores.

Voici à titre d'exemple une expérience de ce type :

MÉLANGES		ÉOSINOPHILES contenant des spores.	ÉOSINOPHILES ne contenant pas de spores.	NOMBRE DE SPORES englobés par les 100 premiers éosinophiles comptés.
I. *Mélange* : 3 gouttes d'exsudat, 1 goutte d'eau physiologique.	Les 2 mélanges, repris chacun dans une pipette capillaire, séjournent 1 h. à l'étuve à 37°. Au bout de ce temps, on ajoute les spores et on reporte à l'étuve.	20	80	22
II. *Mélange* : 3 gouttes d'exsudat, 1 goutte de liquide hydatique.		2	98	2

Les éosinophiles qui sont restés en contact pendant une heure à 37 degrés avec le liquide hydatique perdent donc presque complètement leurs propriétés phagocytaires. Les éosinophiles sont d'autant plus sensibles à l'action du liquide hydatique que celui-ci est plus riche en antigène. Le liquide hydatique dilué à 1/20 dans l'eau physiologique n'empêche plus que très faiblement la phagocytose.

L'expérience suivante, où l'on a pris comme test le staphylocoque blanc, est tout à fait démonstrative.

MÉLANGES		ÉOSINOPHILES contenant des microbes	ÉOSINOPHILES ne contenant pas de microbes	NOMBRE DE STAPHYLOCOQUES englobés par les 100 premiers éosinophiles comptés
I. *Mélange* : 3 gouttes d'exsudat, 1 g. d'eau physiol.	Les 5 mélanges repris chacun dans une pipette capillaire, séjournent 1 h. à l'étuve à 37°. Au bout de ce temps, on ajoute des staphylocoques et on reporte à l'étuve pour 1 heure.	81	19	540
II. *Mélange* : 3 gouttes d'exsudat, 1 g. de liq. hydat. pur.		20	80	75
III. *Mélange* : 3 gouttes d'exsudat, 1 g. de liq. hydat. dilué à 1/5.		19	81	61
IV. *Mélange* : 3 gouttes d'exsudat, 1 g. de liq. hydat dilué à 1/10.		32	68	80
V. *Mélange* : 3 gouttes d'exsudat, 1 g. de liq. hydat. dilué à 1/20.		64	36	320

IV. — ABSORPTION DE L'ANTIGÈNE HYDATIQUE PAR LES ÉOSINOPHILES

Ayant ainsi démontré que le liquide hydatique agit spécifiquement sur les éosinophiles dont il paralyse les fonctions phagocytaires, nous avons voulu rechercher si cette inhibition ne pouvait pas s'expliquer par une absorption élective de l'antigène hydatique par l'éosinophile, ce leucocyte saturé d'antigène devenant incapable d'englober des microbes.

Cette nouvelle hypothèse s'est trouvée vérifiée à la suite d'un

très grand nombre d'expériences, dans lesquelles nous avons utilisé la réaction de fixation, pour démontrer la disparition des propriétés antigéniques du liquide hydatique, mis en contact avec les éosinophiles de l'exsudat péritonéal du cobaye.

Pour démontrer que les éosinophiles peuvent absorber l'antigène hydatique, nous avons employé la technique suivante :

Nous avons fait deux séries d'expériences. Dans la première, nous avons utilisé l'exsudat péritonéal de cobayes neufs, dont un certain nombre présentaient une éosinophilie locale considérable.

Dans la deuxième série d'expériences, nous nous sommes servis de cobayes préparés par des injections répétées de liquide hydatique sous la peau et dans le péritoine. Chez beaucoup d'entre eux, nous avons provoqué une éosinophilie locale aussi intense que possible dans la cavité péritonéale. Pour ce faire, nous avons choisi de préférence des cobayes à éosinophilie sanguine élevée (au moins 10 p. 100) que nous avons préparés par des injections sous-cutanées répétées tous les 8 jours de 10 cent. cubes de liquide hydatique.

Huit jours après la dernière injection préparante, nous injectons dans la cavité péritonéale du cobaye de 5 à 10 cent. cubes de liquide hydatique.

Cette injection provoque, comme on le sait, une forte éosinophilie locale. Pour renforcer encore cette éosinophilie locale, nous avons le plus souvent pratiqué une seconde injection intrapéritonéale 48 heures après la première, avec la même dose de liquide hydatique Nous avons, en effet, établi que, chez les cobayes sensibilisés, chaque injection locale de substance éosinotactique détermine une baisse presque immédiate de l'éosinophilie sanguine, laquelle se relève rapidement et dépasse en général au bout de 24 à 48 heures le taux qu'elle atteignait avant l'injection. Une seconde injection pratiquée 48 heures après la première, dans le péritoine des cobayes préparés, est donc faite chez des animaux accusant le plus souvent une très forte éosinophilie sanguine. Elle provoque de ce fait un renforcement considérable de l'éosinophilie locale survenue lors de la première injection de liquide hydatique dans la séreuse.

Nous avons ainsi noté des pourcentages de 45, 50, 55 et jus-

qu'à 65 et 70 p. 100 d'éosinophiles dans l'exsudat, et ceci encore 2, 3 et 4 jours après la dernière injection locale.

Les cobayes sont sacrifiés de préférence 2, 3, 4 et 5 jours après la dernière injection éosinotactique.

Les cobayes sacrifiés le lendemain de l'injection ont des exsudats extrêmement riches en cellules, mais où l'on rencontre encore un plus ou moins grand nombre de polynucléaires pseudo-éosinophiles. Ces éléments, comme nous le savons déjà, diminuent très fortement de nombre le 2e jour, et l'on n'en rencontre qu'exceptionnellement le 3e et le 4e jour qui suivent l'injection. Pour avoir un exsudat où les éosinophiles soient les seuls éléments granuleux, il y a donc intérêt à sacrifier les cobayes dans les limites indiquées. Il ne faut pas non plus attendre un temps trop long, les éosinophiles diminuant, eux aussi, quoique plus lentement, de nombre dans l'exsudat, à mesure que l'on s'éloigne de la date de l'injection locale.

Pour recueillir les cellules de l'exsudat des cobayes neufs ou préparés, on opère comme il suit :

Le cobaye est saigné à blanc par section des carotides. Immédiatement après la mort, on dissèque la peau de l'abdomen et l'on injecte 10 cent. cubes d'eau physiologique stérile dans la cavité péritonéale. Le péritoine est ouvert. Le liquide, aspiré dans une pipette à boule, est jaugé et distribué à parties égales dans deux tubes à centrifuge stériles. Nous avons ainsi deux lots d'exsudat péritonéal, ce qui nous permet de faire chaque expérience en double, un tube contrôlant l'autre.

Connaissant le volume de liquide contenu dans chacun des deux tubes à centrifuge, on détermine avec l'hématimètre de Thomas-Zeiss le nombre de leucocytes en suspension dans 1 millim. cube de liquide péritonéal dilué. On peut ainsi déterminer le nombre total de leucocytes contenus dans le volume connu de liquide péritonéal recueilli dans chaque tube. Le mélangeur de Thomas-Zeiss une fois rempli, il faut avoir soin de centrifuger rapidement l'exsudat dilué pour éviter la coagulation (avec une centrifuge à la main, pendant 3 minutes). Après avoir centrifugé à fond et décanté, on lave une seconde fois le culot leucocytaire dans 10 cent. cubes d'eau physiologique ; puis on centrifuge de nouveau et on décante. Les leucocytes contenus dans chacun des deux tubes sont alors mis en

contact avec 2/10 d'eau physiologique et 1/10 de liquide hydatique pur ou dilué suivant les conditions de l'expérience. On agite et l'on porte les deux tubes au bain-marie à 37 degrés pendant 1 heure et demie. Au bout de ce temps, on centrifuge et le liquide décanté avec soin est chauffé une demi-heure à 56 degrés pour détruire toute trace d'alexine, et éprouvé sur sa teneur en antigène avec un sérum échinococcique de provenance humaine. Les expériences de contrôle sont faites avec les mêmes doses d'antigène hydatique, auxquelles on fait subir les mêmes chauffages (1 h. 1/2 à 37 degrés, une demi- heure à 56 degrés). Avec les cellules qui ont été en contact avec l'antigène, on fait des frottis colorés et l'on détermine la formule leucocytaire de chaque exsudat.

La réaction de fixation est pratiquée en utilisant les propriétés hémolytiques d'un sérum hydatique connu, non chauffé, vis-à-vis des globules rouges de mouton. C'est le procédé rapide de la technique rationnelle de Weinberg. Il faut avoir soin, avant d'entreprendre l'expérience, de titrer exactement l'antigène vis-à-vis du sérum, certains sérums, surtout ceux riches en anticorps et pauvres en alexine, pouvant donner une réaction de fixation positive avec des doses minimes de liquide hydatique.

Pour titrer l'antigène, on met 1/10 de sérum hydatique en présence de doses variables d'antigène : 1/10 d'antigène pur, 1/10 d'antigène dilué à 1/2, 1/10 d'antigène dilué à 1/5, 1/10 d'antigène dilué à 1/10, 1/10 d'antigène dilué à 1/15, 1/10 d'antigène dilué à 1/20.

La dose la plus faible d'antigène qui donne encore une réaction de fixation positive est la dose limite. Nous mettons les leucocytes en contact avec une dose d'antigène juste supérieure à la dose limite. C'est-à-dire que si la dose limite est de 1/10 de cent. cube d'antigène dilué à 1/10, nous employons dans notre expérience la dose de 1/10 cent. cube d'antigène dilué à 1/5, etc.

En prenant ces précautions, nous avons obtenu pour les cobayes neufs et pour les cobayes préparés les résultats consignés dans les tableaux ci-dessous.

Le tableau I résume les expériences effectuées avec les leucocytes provenant de la cavité péritonéale de 20 cobayes neufs.

TABLEAU I. — **Expériences d'absorption pratiquées avec les cellules péritonéales de cobayes neufs.**

Nos des Cobayes	Formule leucocytaire de l'exsudat			Nombre de cellules dans chaque tube	Nombre d'éosinophiles	Nombre de polynucléaires	Dose d'antigène mise au contact des cellules	Résultats
	Mon.	Pol.	Éos.					
46-F.	47	0	53	»	»	»	1/10 c.c. dil. à 1/10	Hém. totale : en 30 min.
85-F.	53	0	47	22.400.000	10.340.000	0	1/10 c.c. dil. à 1/10	Hém. totale : en 15 min.
88-F.	40	0	60	10 000.000	6.000.000	0	1/10 c.c. dil. à 1/10	Hém. totale : en 10 min.
45-F.	74	0	26	»	»	»	1/10 c.c. dil. à 1/10	Hémol. part : en 30 min.
73-L.	60	0	40	8.400.000	3.500.000	0	1/10 c.c. dil. à 1/2	Hém. pr. tot. : en 30 min.
34-K.	50	0	50	10.000.000	5.000.000	0	1/10 c.c. pur.	Hémol. part. : en 30 min.
90-L.	60	0	40	10.000.000	4.800.000	0	1/10 c.c. pur.	Hémol. part. : en 30 min.
54-K.	65	0	35	11.250.000	3.850.000	0	1/10 c.c. pur.	Hémol. part. : en 1 heure.
2-N.	65	0	35	7.500.000	2.620.000	0	1/10 c.c. dil. à 1/5	Hémol. part. : en 1 heure.
2-B.	60	0	40	6.000.000	2.400.000	0	1/10 c.c. dil. à 1/5	Hémol. part. : en 30 min.
1-N.	90	0	10	16.000.000	1.600.000	0	1/10 c.c. pur.	Fixation.
46-K.	80	0	20	5.000.000	1.000.000	0	1/10 c.c. pur.	Fixation.
21-L.	85	0	15	4.000.000	600.000	0	1/10 c.c. dil. à 1/5	Fixation.
14-L.	90	0	10	3.000.000	450.000	0	1/10 c.c. pur.	Fixation.
1-B.	98	0	2	6.000.000	120.000	0	1/10 c.c. dil. à 1/5	Fixation.
1-J.	100	0	0	8.000.000	0	0	1/10 c.c. pur.	Fixation.
2-J.	100	0	0	6.000.000	0	0	1/10 c.c. pur.	Fixation.
82-I.	100	0	0	6.000.000	0	0	1/10 c.c. pur.	Fixation.
17-K.	55	45	0	7.500.000	0	3.375.000	1/10 c c. pur.	Fixation.
1-G.	100	5	0	3.000.000	0	150.000	1/10 c.c. pur.	Fixation.

Trois fois, l'antigène a été complètement absorbé par les leucocytes ; 7 fois, l'antigène n'a été absorbé que partiellement ; enfin, dans 10 cas, le liquide hydatique n'a rien perdu de ses propriétés antigéniques, puisqu'il a fixé l'alexine d'un sérum échinococcique humain. Il faut remarquer que ces résultats sont rigoureusement parallèles au nombre d'éosinophiles pré-

sents dans chaque expérience. Ainsi, le liquide hydatique a été complètement privé de ses propriétés antigéniques, après un contact d'une heure et demie au bain-marie à 37 degrés avec un culot leucocytaire dans lequel il a été compté de 10.300.000 à 6.000.000 d'éosinophiles. Les résultats partiels ont été obtenus avec des exsudats contenant de 5.000.000 à 2.400.000 éosinophiles. Enfin, dans le cas où le nombre des éosinophiles ne dépassait pas 1.600.000, le liquide hydatique est resté suffisamment riche en antigène pour donner encore une réaction de fixation positive avec un sérum échinococcique. Notons, dans un de ces cas, la présence de 3.375.000 polynucléaires pseudo-éosinophiles qui n'ont pu absorber une quantité appréciable d'antigène.

Il était logique de penser que les leucocytes provenant d'un organisme immunisé absorbaient encore plus facilement l'antigène hydatique que les éosinophiles des cobayes neufs.

Nous avons réuni dans le tableau II quelques expériences effectuées avec les cellules de l'exsudat péritonéal de cobayes préparés par trois injections sous-cutanées de 10 cent. cubes de liquide hydatique, espacées à huit jours d'intervalle.

TABLEAU II. — **Expériences d'absorption pratiquées avec les cellules péritonéales de cobayes préparés par 3 injections sous-cutanées** (*sacrifiés* 8-10 *jours après la dernière*)

Nos des cobayes	FORMULE LEUCOCYTAIRE de l'exsudat			NOMBRE de CELLULES dans chaque tube	NOMBRE D'ÉOSINOPHILES	DOSE D'ANTIGÈNE mise au contact des cellules.	RÉSULTATS
	Mon.	Pol.	Éos.				
80-F.	70	0	29	10.000.000	2.900 000	1/10 dilué à 1 p. 10.	Hémol. totale : en 25 min.
62-F.	60	0	40	6.000.000	2.520.000	1/10 pur.	Hémol. totale : en 35 min.
54-F.	75	0	25	12.000.000	3.000.000	1/10 pur.	Hémol. partielle : en 30 min.
15-I..	80	0	20	9.000.000	1.800.000	1/10 pur.	Hémol. partielle : en 1 heure.
38-F.	70	0	30	5.600.000	1.650.000	1/10 pur.	Fixation.
17-I.	98	0	2	3.000.000	60.000	1/10 pur.	Fixation.

Les résultats obtenus en utilisant ces animaux sont déjà plus

favorables que ceux notés avec les cobayes neufs. Deux fois nous avons obtenu une absorption totale de l'antigène hydatique en nous servant d'exsudats contenant moins de 3.000.000 d'éosinophiles, c'est-à-dire dans des conditions où dans l'expérience précédente nous n'obtenions qu'une absorption partielle de l'antigène.

Mais la différence entre les résultats obtenus en utilisant comparativement les cobayes neufs et les cobayes préparés s'accentue encore, lorsqu'on emploie l'exsudat d'animaux sensibilisés, ayant reçu une ou plusieurs injections de liquide hydatique dans la cavité péritonéale.

Nous avons dit que, dans ces conditions, on peut produire de fortes éosinophilies locales, lorsqu'on dispose d'animaux ayant des éosinophiles dans le sang. Nous avons ainsi obtenu 15 fois (sur 39 expériences) des exsudats contenant de 3.200.000 à 20.000.000 d'éosinophiles. Les écarts entre les nombres de leucocytes présents dans les tubes d'expérience s'expliquent, comme nous l'avons déjà indiqué, par l'intervalle qu'on laisse s'écouler entre la dernière injection intrapéritonéale et le moment où l'on sacrifie l'animal.

Le tableau III résume 39 expériences pratiquées en employant l'exsudat de cobayes préparés, ayant reçu du liquide hydatique dans le péritoine. Sur ce nombre, nous avons obtenu 25 absorptions totales d'antigène, 3 absorptions partielles. Dans 11 cas l'antigène n'a pas été neutralisé.

Dans les 25 expériences positives, le nombre d'éosinophiles présents dans les tubes oscillait entre 20 millions et 1 million. Notons deux expériences (cobayes 1 C et 19 K) où nous avons mis en contact avec les cellules, dans un des tubes d'expérience la dose normale d'antigène (dose juste supérieure à la dose limite), et dans le second tube une dose double de la première. Les éosinophiles ont neutralisé non seulement la dose normale mais encore la dose double d'antigène. Notons encore 6 cas positifs, où le nombre d'éosinophiles était compris entre 1 et 2 millions. Nous savons que, lorsqu'on utilise des exsudats neufs, cette quantité d'éosinophiles est tout à fait insuffisante pour appauvrir, d'une façon appréciable, le liquide hydatique en antigène.

Tableau III.

Expériences d'absorption pratiquées avec les cellules péritonéales de cobayes préparés, ayant reçu du liquide hydatique dans le péritoine.

Nos des cobayes	Formule leucocytaire de l'exsudat. Mon.	Pol.	Éos.	Nombre de cellules dans chaque tube	Nombre d'éosinophiles	Nombre de polynucléaires	Dose d'antigène mise au contact des cellules	Résultat de la réaction de fixation	Observations
1-C.	20	55	25	80.000.000	20.000.000	44.000.000	1/10 c.c. dil. à 1/5 dans le 1er tube. 2/10 c.c. dil. à 1/5 dans le 2e tube.	Hém. tot. en 10 min. Hém. tot. en 30 min.	3 inject. intrapéritonéales; sacrifié 24 h. ap. la dern.
96-L.	60	10	30	48.000.000	14.000.000	4.800.000	1/10 pur.	Hém. tot. en 15 min.	5 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 24 h. ap. la dern.
20-K.	35	0	65	16.000.000	11.050.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 10 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
2-K.	60	0	40	24.000.000	9.600.060	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 30 min.	5 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
39-K.	55	0	45	17.500.000	7.650.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 10 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap la dern.
80-H.	65	0	35	21.000.000	7.550.000	0	1/10 pur	Hém. tot. en 10 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
66-L.	70	0	30	25.000.000	7.500.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hémolyse en 10 min.	4 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
31-K.	75	0	25	30.000.000	7.500.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. totale en 10 m.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
19-K.	67	0	33	22.500.000	7.260.000	0	1/10 dilué à 1/5. dans le 1er tube. 2/10 dilué à 1/5. dans le 2e tube.	Hém. tot. en 30 min. Hém. subtot. en 1 h.	5 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
41-L.	55	0	45	15.000.000	6.750.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 10 min.	4 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
45-L.	65	0	35	18.000.000	6.300.000	0	1/10 pur	Hém. tot. en 15 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
5-M.	40	0	60	10.000.000	6.000.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 10 min.	5 injections intrapéritonéales; sacrifié 5 jours ap. la dern.
1-O.	60	0	40	12.000.000	4.800.000	0	1/10 pur	Hém. tot. en 10 min.	4 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
65-H.	70	0	30	15.000.000	4.500.000	0	1/10 pur	Hém. tot. en 15 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.;
98-K.	60	0	10	8.000.000	3.200.000	0	1/10 pur	Hém. sub. tot. en 35 m.	4 injections intrapéritonéales;

99 K.	70	0	30	7.000.000	2.100.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 30 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
14-M.	60	0	40	5.000.000	2.000.000	0	1/10 dilué à 1/5.	Hém. tot. en 10 min.	5 injections intrapéritonéales; sacrifié 5 jours ap. la dern.
77-I.	88	0	12	13.300.000	1.600.000	0	1/10 dilué à 1/2.	Hém. tot. en 10 min.	3 injections intrapéritonéales; sacrifié 8 jours ap. la dern.
34-M.	85	10	5	30.000.000	1.500.000	0	1/10 dilué à 1/5	H. subtot. en 30 min.	5 injections intrapéritonéales; sacrifié 2 jours ap. la dern.
39-L.	80	10	10	13.500.000	1.350.000	1.350.000	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 10 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
27-L.	80	0	20	6.000.000	1.200.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 60 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
41-M.	80	0	20	5.000.000	1.000.000	0	1/10 dilué à 1/5	Hém. tot. en 30 min.	4 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
19-H.	90	0	10	10.000.000	1.000.000	0	1/10 pur	Hém. tot. en 25 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
71-I.	80	15	5	6.000.000	300.000	900.000	1/10 dilué à 1/2	Hém. tot. en 30 min.	3 injections intrapéritonéales; sacrifié 8 jours ap. la dern.
32-K.	85	5	10	10.500.000	1.000.000	500.000	1/10 dilué à 1/5	Hém. part. en 30 min.	5 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
11-L.	88	2	10	10.500.000	1.000.000	0	1/10 pur	Fixation.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
36-I.	85	15	0	6.000.000	0	1.500.000	1/10 pur	Hém. part. en 60 min.	4 inj. sous-cut., 2 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
42-I.	80	20	0	4.500.000	0	900.000	1/10 pur	Hém. part. en 60 min.	3 injections intrapéritonéales; sacrifié 8 jours ap. la dern.
46-M.	85	0	15	6.000.000	900.000	0	1/10 dilué à 1/2	Fixation.	3 injections intrapéritonéales; sacrifié 4 jours ap. la dern.
33-M.	90	0	10	9.000.000	900.000	0	1/10 dilué à 1/2	Fixation.	4 injections intrapéritonéales; sacrifié 5 jours ap. la dern.
66-F.	85	0	15	4.500.000	675.000	0	1/10 pur	Fixation.	4 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 5 jours ap. la dern.
76-L.	94	0	6	9.000.000	630.000	0	1/10 pur	Fixation.	4 injections intrapéritonéales; sacrifié 4 jours ap. la dern.
29-M.	90	0	10	6.000.000	600.000	0	1/10 pur	Fixation.	4 injections intrapéritonéales; sacrifié 3 jours ap. la dern.
26-M.	95	0	5	12.000.000	600.000	0	1/10 dilué à 1/2	Fixation.	4 injections intrapéritonéales; sacrifié 5 jours ap. la dern.
42-M.	85	5	10	9.000.000	450.000	0	1/10 dilué à 1/2	Fixation.	3 injections intrapéritonéales; sacrifié 4 jours ap. la dern.
38-K.	100	0	0	6.000.000	0	0	1/10 dilué à 1/5	Fixation.	5 inj. sous-cut., 1 intrapérit.; sacrifié 3 jours ap. la dern.
76-I.	100	0	0	5.000.000	0	0	1/10 dilué à 1/2	Fixation.	3 injections intrapéritonéales; sacrifié 8 jours ap. la 3e inj.
1-L.	100	0	0	6.000.000	0	0	1/10 pur	Fixation.	4 injections intrapéritonéales; sacrifié 3 jours ap. la dern.

Signalons encore le cas du cobaye 71 I (hémolyse totale) et ceux des cobayes 36 I et 42 I (hémolyse partielle) où ce sont les polynucléaires pseudo-éosinophiles qui semblent avoir joué le rôle principal dans l'absorption de l'antigène hydatique. Cette constatation n'est pas pour nous surprendre, puisque nous savons que les polynucléaires répondent à l'appel des produits vermineux quand les éosinophiles font défaut dans le sang. Il n'est pas étonnant que ces cellules puissent neutraliser un produit parasitaire surtout chez des animaux immunisés. Enfin, dans les 11 expériences où l'antigène hydatique n'a pas été neutralisé, les éosinophiles, dans les tubes d'expérience, étaient en nombre inférieur à 1 million.

* * *

En résumé, cette série d'expériences montre que les éosinophiles, qui possèdent déjà, comme nous l'avons établi, d'importantes propriétés phagocytaires, semblent particulièrement bien adaptés à l'absorption des produits toxiques.

Le mécanisme de cette absorption serait intéressant à préciser. S'agit-il d'un phénomène actif de la cellule, comparable à l'acte phagocytaire, ou d'un processus physico-chimique indépendant de l'activité propre du leucocyte?

Nous avons pratiqué une série d'expériences d'absorption d'antigène hydatique parallèlement au bain-marie à 37 degrés et à la température de la glacière à + 6 degrés. Nous avons également fait quelques expériences, en utilisant des leucocytes préalablement refroidis pendant une heure dans des tubes plongés dans la glace fondante à 0 degré; au bout de ce temps, on ajoute aux cellules du liquide hydatique, sans que les tubes soient sortis de la glace; on laisse le contact s'effectuer à 0 degré pendant une heure et demie.

Le tableau IV, qui rend compte de ces expériences, montre que, dans ces conditions diverses, l'antigène est absorbé par les éosinophiles aussi bien à 37 degrés qu'à + 6 ou qu'à 0 degré.

Tableau IV.

Nos des cobayes	Formule leucocytaire de l'exsudat			Nombre de cellules dans chaque tube	Nombre d'éosinophiles	Dose d'antigène mise au contact des leucocytes	Résultats de la réaction de fixation		Observations
	Mon.	Pol.	Éos.				Contact à 37 degrés	Contact à + 6 degrés	
Absorption de l'antigène à la glacière.									
66-L.	70	0	30	25.000.000	7.500.000	1/10 c.c. dilué à 1/5	Hémol. en 10 min.	Hémol. en 10 min.	4 inj. sous-cut. Sacr. 3 j. ap. la dern.
41-L.	55	0	45	15.000.000	6.750.000	1/10 c.c, dilué à 1/5	Hémol. en 10 min.	Hémol. en 10 min.	4 inj. sous-cut. Sacr. 3 j. ap. la dern.
98-R.	60	0	40	8.000.000	3.200.000	1/10 c.c. pur.	H. sub. en 35 min.	H. sub. en 35 min.	4 inj. intrapér. Sacr. 4 j. ap. la dern.
41-M.	80	0	20	5.000.000	1.000.000	1/10 c.c. dilué à 1/5	Hémol. en 30 min.	Hémol. en 30 min.	4 inj. intrapér. Sacr. 5 j. ap. la dern.
2-B.	60	0	40	6.000.000	2.400.000	1/10 c.c. dilué à 1/5	Hémol. partielle.	Hémol. partielle.	Cobaye neuf.
46-M.	85	0	15	6.000.000	900.000	1/10 c.c. dilué à 1/2	Fixation.	Fixation.	3 inj. intrapér. Sacr. 4 j. ap. la dern.
76-L.	94	0	6	9.000.000	630.000	1/10 c.c. pur.	Fixation.	Fixation.	4 inj. intrapér. Sacr. 4 j. ap. la dern.
29-M.	90	0	10	6.000.000	600.000	1/10 c.c. pur.	Fixation.	Fixation.	4 inj. intrapér. Sacr. 3 j. ap. la dern.
42-M.	85	5	10	9.000.000	450.000	1/10 c.c. dilué à 1/2	Fixation.	Fixation.	3 inj. intrapér. Sacr. 4 j. ap. la dern.
1-L.	100	0	0	6.000.000	0	1/10 c.c. pur.	Fixation.	Fixation.	4 inj. intrapér. Sacr. 3 j. ap. la dern.
14-L.	90	0	10	3.600.000	450.000	1/10 c.c. dilué à 1/2	Fixation.	Fixation.	Cobaye neuf.
Absorption de l'antigène à la glacière après réfrigération des leucocytes à 0 degré.									
5-M.	40	0	60	10.000.000	6.000.000	1/10 c.c. dilué à 1/5	H. tot. en 10 min.	H. tot. en 10 min.	5 inj. intrapér. Sacr. 5 j. ap. la dern.
14-M.	60	0	40	5.000.000	2.000.000	1/10 c.c. dilué à 1/5	H. tot. en 20 min.	H. tot. en 20 min.	5 inj. intrapér. Sacr. 5 j. ap. la dern.
34-M.	85	10	5	30.000.000	1.500.000	1/10 c.c. dilué à 1/5	H. sub. en 30 min.	H. sub. en 30 min.	5 inj. intrapér. Sacr. 2 j. ap. la dern.
33-M.	90	0	10	9.000.000	900.000	1/10 c.c. dilué à 1/2	Fixation.	Fixation.	4 inj. intrapér. Sacr. 5 j. ap. la dern.
26-M.	95	0	5	12.000.000	600.000	1/10 c.c. dilué à 1/2	Fixation.	Fixation.	4 inj. intrapér. Sacr. 5 j. ap. la dern.

Nous continuons nos recherches sur le mécanisme de l'absorption des substances toxiques par les éosinophiles. Ces premiers résultats nous engagent à penser que ce phénomène doit être considéré comme un processus physico-chimique, mais probablement en rapport avec la structure de la cellule vivante, comme nous le font prévoir deux expériences pratiquées avec des leucocytes tués par la chaleur.

Conclusions.

1° Les éosinophiles possèdent des propriétés phagocytaires. Ils englobent les matières inertes et sont capables de phagocyter non seulement la plupart des espèces microbiennes, mais aussi les protozoaires et les globules rouges. Cependant, leurs propriétés phagocytaires se manifestent d'une façon plus intense vis-à-vis des microbes que vis-à-vis des cellules.

2° Les expériences faites avec le *B. subtilis*, le *B. coli*, les protozoaires et les globules rouges permettent d'affirmer que les éosinophiles sont capables non seulement d'englober, mais aussi de digérer complètement ces éléments.

3° La phagocytose par les éosinophiles a lieu aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* (péritoine, tissu cellulaire sous-cutané, sang circulant). Lorsque les éosinophiles sont très abondants dans le sang, ou lorsqu'ils sont accumulés au point de pénétration d'un microbe, ils peuvent jouer un rôle important dans la protection immédiate de l'organisme contre l'infection.

4° Bien que les éosinophiles soient doués de propriétés phagocytaires indiscutables, ils ne jouent dans l'organisme que le rôle de phagocytes suppléants. Leurs propriétés phagocytaires sont, en général, passées inaperçues à cause, d'une part, de leur présence exceptionnelle dans les collections purulentes, et d'autre part, de la technique habituelle de coloration des microbes qui ne permet pas de différencier les différentes variétés leucocytaires.

5° Les éosinophiles, ayant subi un contact d'une heure à 37 degrés avec le liquide hydatique, ne manifestent plus leurs propriétés phagocytaires, alors que les autres leucocytes (neutrophiles et mononucléaires) restent capables d'englober des microbes.

6° Les éosinophiles absorbent le liquide hydatique. Ce dernier perd son pouvoir antigénique après avoir été en contact pendant quelque temps avec un nombre convenable d'éosinophiles. Il est facile de le démontrer par la réaction de fixation pratiquée avec un sérum frais échinococcique, étudié comparativement avec du liquide hydatique normal et du liquide hydatique ayant subi le contact des cellules.

7° Les éosinophiles des animaux immunisés absorbent plus facilement l'antigène hydatique que les éosinophiles des animaux neufs.

8° L'absorption de l'antigène hydatique par les éosinophiles a lieu aussi bien à l'étuve qu'à la glacière.

9° En résumé, les leucocytes éosinophiles, comme les polynucléaires neutrophiles, jouent un rôle très important dans l'immunité. Mais alors que les neutrophiles ont pour fonction principale la protection de l'organisme contre les microbes, les éosinophiles sont surtout adaptés à la neutralisation de certaines substances toxiques (1). Les éosinophiles manifestent leur pouvoir phagocytaire en l'absence (totale ou relative) des polynucléaires neutrophiles. Il en est de même pour ces derniers qui peuvent se charger de l'absorption des produits vermineux en l'absence d'éosinophiles.

Il est très vraisemblable qu'après avoir absorbé des produits toxiques, les éosinophiles jouent un rôle dans l'élaboration des anticorps spécifiques. Les recherches que nous poursuivons actuellement ont pour but de résoudre ce nouveau problème.

(*Mémoire remis à la Rédaction le 1er avril 1914.*)

(1) Dans un mémoire publié récemment, Kobzarenko (Ces *Annales*, t. XXIX, n° 4, avril 1915) a montré que les leucocytes vivants du sang de cheval (surtout polynucléaires) pouvaient neutraliser *in vitro* la toxine diphtérique. Les leucocytes tués par le chauffage perdent cette propriété. Bien que la technique employée par l'auteur ait été très différente de la nôtre, nous sommes heureux que les résultats de Kobzarenko se soient trouvés d'accord avec nos principales conclusions qui établissent le rôle important joué par les leucocytes dans la neutralisation des substances toxiques.

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche VI.

Figures de phagocytose *in vitro* par les éosinophiles de l'exsudat péritonéal du cobaye. Technique de Pappenheim (May-Giemsa). Objectif à immersion de Zeiss 1/12; oculaire 4.

Figures 1 et 2, noir animal. *V*, vacuole contenant une particule de noir animal englobée; figures 3, 4 et 5, staphylocoque; figure 6, sarcine orange; figure 7, streptocoque; figures 8 et 9, gonocoque; figures 10 et 11, méningocoque; figure 12, *B. anthracis*; figures 13 et 14, *B. coli*; figures 15 et 16, B. diphtérique; figures 17, 18, 19 et 20, B. tuberculeux; figures 21 et 22, *Monilia albicans*; figures 23 et 24, *Sporotrichum Beurmanni*; figures 25 et 26, *Spirochæta gallinarum*; figures 27, 28 et 29, *Heteromita caviæ*, *n*, reste nucléaire; figure 30, *V*, grande vacuole digestive ayant contenu un globule rouge; figures 31 et 32, *Trypanosoma Evansi*, *N*, reste du noyau, *b*, reste du blépharoblaste; figure 33, globule rouge de mouton; figure 34, le même plus pâle en voie de digestion; figure 35, érythrocyte de poule en voie de digestion, n', noyau très altéré de l'érythrocyte.

Planche VII.

Phagocytose de *B. subtilis*, *in vivo*, par les éosinophiles dans le péritoine du cobaye; même technique, même grossissement; *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, phases successives de la digestion intraleucocytaire du *B. subtilis*; *Pol.*, polynucléaire pseudo-éosinophile.

Figure 2, phagocytose de globules rouges *in vivo*, par les éosinophiles dans le péritoine du cobaye; même technique; objectif à immersion 1/12; oculaire 4; *Eo*, éosinophile; *Pol*, polynucléaire; *Ma*, *Ma'*, macrophages; *Mon*, monocyte; *Ly*, lymphoïdocyte; *a*, éosinophile ayant englobé un globule rouge; *b*, globule rouge phagocyté en voie de digestion; *V*, grande vacuole digestive dans laquelle s'est dissous un globule rouge.

SUR UNE PRÉTENDUE VARIATION BIOCHIMIQUE DU FERMENT BULGARE

par F. DUCHAČEK.

PARTIE EXPÉRIMENTALE (SUITE)

3. Action des ferments sur les milieux artificiels lactosés.

Ces recherches comparatives ont été faites avec l'extrait de touraillons additionné de 4 p. 100 de lactose, de 1 p. 100 de peptone et de 3 p. 100 de carbonate de calcium précipité.

Il est curieux de constater qu'avec les milieux artificiels la culture du microbe Bertrand exige la présence de carbonate de calcium, tandis qu'avec le lait elle ne l'exige pas.

Considérons encore que le ferment Bertrand peut produire et supporter 3 p. 100 d'acide lactique et nous pourrons affirmer que c'est plutôt la présence des sels calcaires que celle des carbonates qui décide. En effet, le ferment ne s'est pas développé en présence des autres carbonates (par exemple de magnésie et de zinc), mais il a donné une végétation florissante dans le cas où l'on a ajouté en même temps un autre sel calcaire (le phosphate ou le sulfate). On a encore un autre argument en faveur de cette opinion ; c'est la composition du lait, le meilleur milieu nutritif, qui est très riche en sels calcaires et renferme en même temps des substances (la caséine, les phosphates neutres) capables de saturer une petite partie des acides produits.

Le témoin contenait 4,09 grammes de lactose dans 100 grammes de liquide. Une proportion de 0,313 gramme sur cette quantité appartenait à un sucre réducteur fourni par l'extrait de touraillons. Chose curieuse : cette matière sucrée n'a été fermentée par le ferment Bertrand que dans le milieu lactosé (tableau IV, p. 305) et elle est restée intacte en présence de glucose (voir plus bas tableau VII).

Les expériences avec le lactose démontrent que la transfor-

mation de ce sucre par le ferment Bertrand n'est pas aussi rapide et que la bactérie y est tuée en un temps plus court que dans le lait additionné de carbonate de calcium. Pour le développement du microbe Effront le milieu artificiel lactosé est, au contraire, très favorable et aussi bon que le lait. En outre le rendement en acide lactique n'a pas changé avec le milieu.

Tableau V. — **Action du ferment bulgare sur le liquide lactosé.**

(*Pour* 100 *grammes de liquide.*)

AGE de la culture en jours	LACTOSE DISPARU milligr.	LACTOSE DISPARU p. 100	RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE — dans une solution de PEPTONE — VÉGÉTATION	DANS LE LAIT — La COAGULATION était-elle normale ?	DANS LE LAIT — ACIDITÉ apparue en acide lactique milligramme (Après 5 à 7 jours)	DANS LE LAIT — CASÉINE solubilisée p. 100 (Après 5 à 7 jours)
a) *A la température de* 30 *degrés.*						
5	1.118	30	M	+	2.408	10
8	1.990	53	M	+	2.030	8
10	1.118	30	M	M	M	M
24	2.930	78	M	+	862	6
33	3.040	80	M	**	—	—
35	4.090	100*	M	M	M	M
60	4.090	100	M	M	M	M
90	4.090	100	M	M	M	M
b) *A la température de* 40 *degrés.*						
9	3.354	82	M	+	—	—
14	4.090	100	M	+	2.002	8
30	4.090	100	M	M	M	M
72	4.090	100	M	M	M	M

* L'acidité apparue, calculée en acide lactique, a été de 4.256 milligrammes, c'est-à-dire que le rendement en acide lactique était 104 p. 100.
** Coagulation et disparition de la caséine; la stérilisation insuffisante.

La formation de spores et de voiles n'a jamais été observée avec le ferment Bertrand, quoique les cultures aient été examinées encore deux mois après la disparition complète de

sucre. Au contraire, on a toujours observé que le ferment enlevé du milieu artificiel produit une coagulation normale du lait et ne solubilise qu'une très petite partie de la caséine. Plus tard, la coagulation du lait ne se produit plus du tout et la semence est tuée. Aussi le ferment Bertrand enlevé du milieu lactosé n'a jamais donné de développement dans la solution de peptone. Or, bien que les conditions indiquées par Effront aient été réalisées, on n'a pas observé, malgré cela, la transformation d'un ferment dans l'autre.

Le ferment Effront (voir le tableau VI) quel que fût son âge, s'est comporté de la même manière, il s'est développé dans la solution de peptone et, après avoir coagulé le lait, il y a attaqué la caséine très énergiquement.

TABLEAU VI. — **Action du ferment Effront sur le liquide lactosé.**
(*Pour* 100 *grammes de liquide.*)

AGE de la culture en jours	LACTOSE DISPARU		RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE			
			dans une solution de PEPTONE	DANS LE LAIT		
	milli-gr.	p. 100	VÉGÉTATION	La COAGULATION était-elle normale ?	ACIDITÉ apparue en acide lactique milligrammes (Après 5 à 7 jours)	CASÉINE solubilisée p. 100. (Après 5 à 7 jours)
A la température de 30 degrés.						
3	567	15	+	+	—	—
7	1.391	37	+	+	483	72
12	1.102	29	+	+	—	—
34	2.830	75*	+	+	562	67
86	2.694	71**	+	+	—	—
40	3.470	92	+	+	528	63

* L'acidité apparue, calculée en acide lactique, a été de 2.114 milligrammes, c'est-à-dire que le rendement en acide lactique était 75 p. 100.
** L'acidité apparue, calculée en acide lactique, a été de 1.782 milligrammes, c'est-à-dire que le rendement en acide lactique était 66 p. 100.

Très intéressants sont les résultats des essais faits sur 600 cent. cubes du même liquide contenant 24-54 grammes de

lactose (1,878 gramme, dans l'extrait de touraillons). La culture de microbe Bertrand se faisait dans les fioles à col étroit complètement remplies de liquide, pour que la surface de milieu restât petite. J'ai constaté, d'accord avec Cohendy (*loc. cit.*), que le ferment bulgare est un aérobie facultatif, inclinant à l'anaérobiose; le ferment Effront au contraire préfère la vie aérobie, ce que démontre déjà la formation des voiles. Dans les conditions indiquées, le ferment Bertrand pousse toujours très bien. Si on le cultive au contraire dans les minces couches des liquides ou si l'on aère la culture par un courant d'air, la végétation de microbe est faible ou nulle et, si c'est le lait qui a servi de milieu de culture, sa coagulation est retardée. Cette disposition des expériences, nuisible pour la culture de ferment Bertrand, est au contraire favorable pour le développement de la bactérie d'Effront.

Voici d'après quelle méthode on a procédé à l'analyse chimique des liquides témoins et des liquides cultivés.

La culture de 33 jours pour le ferment Bertrand et de 34 jours pour le ferment Effront a été filtrée; le dépôt, titré par l'acide chlorhydrique normal, a donné la quantité d'acide lactique combinée au carbonate de calcium.

Le ferment Bertrand a donné. .	24,138 gr. d'acide lactique.
Le ferment Effront a donné . . .	11,529 grammes.

L'acidité du filtrat, évaluée en acide lactique, a été la suivante :

Bertrand	1,386 grammes.
Effront	1,156 —

Voici la totalité d'acides calculée en acide lactique :

Bertrand.	**25,524** grammes.
Effront.	**12,685** —

Après soustraction des autres acides volatils et fixes, il reste, pour l'acide lactique seul :

Bertrand.	24,300 grammes.
Effront.	9,068 —

Les rendements en acide lactique sont :

Bertrand.	**99** p. 100.
Effront.	**53** —

Dans le filtrat, on a déterminé le sucre par la méthode de Bertrand :

Bertrand	0
Effront	7,56 grammes.

Alors le ferment a fait disparaître :

Bertrand	100	p. 100	de sucre.
Effront	69	—	—

Pour précipiter le calcium dissous, le filtrat est additionné d'acide oxalique en quantité aussi exacte que possible et concentré, après une nouvelle filtration, jusqu'à consistance sirupeuse. Le liquide distillé, renfermant les produits volatils, est saturé avec de l'eau de baryte filtrée. On a trouvé, calculé en *acide acétique* :

Bertrand	0,785 gr.	(environ 3 p. 100 de l'acidité totale).
Effront	2,188 gr.	(environ 17 p. 100 — totale).

Ainsi, 100 grammes de sucre ont formé :

Bertrand	3,2
Effront	12,9 p. 100 de cet acide.

Voici le rapport des acides fixes aux acides volatils :

Bertrand	31 »
Effront	4,35

Le sirop, fortement acide, contenant des produits fixes, est épuisé par l'éther, les liquides éthérés sont distillés et le résidu de la distillation est redissous dans l'eau et additionné de baryte en petit excès. Puis on sature l'excès de baryte par le gaz carbonique, on fait bouillir pour décomposer le bicarbonate, on filtre, on transforme le sel barytique par le sulfate de zinc en lactate de zinc; le liquide filtré soumis à une double cristallisation a donné deux portions de lactate de zinc qui a été desséché à + 30 degrés. Résultats :

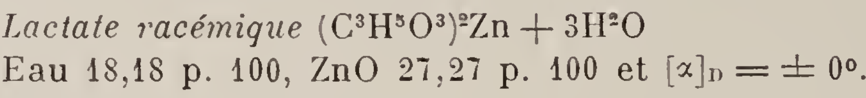
Bertrand	1re cristallisation	18,7350 grammes.
	2e —	2,5438 —
Effront	1re cristallisation	1,817 —
	2e —	1,100 —

La nature des lactates de zinc est reconnue, d'une part, d'après la déviation polarimétrique d'une solution aqueuse à

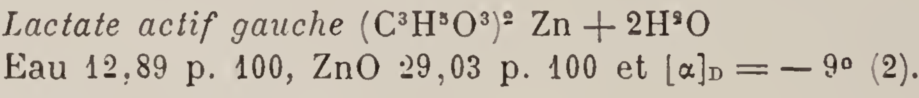
2 p. 100 sous une épaisseur de 50 centimètres, d'autre part, à l'aide du dosage de l'eau de cristallisation à 110 degrés et celui de l'oxyde de zinc par calcination. Voici les données analytiques :

		BERTRAND	EFFRONT
1re cristallisation	Eau p. 100 . .	18,0	12,92
	ZnO p. 100 . .	28,0	29,4
	$[\alpha]_D$	± 0	— 7,27° (1)
2e cristallisation	Eau p. 100 . .	18,04	11,4
	ZnO p. 100 . .	28,12	30,8
	$[\alpha]_D$	± 0°	— 7,77° (2)

Avec le ferment Bertrand, l'analyse du sel de zinc concorde exactement avec celle du


Lactate racémique $(C^3H^5O^3)^2Zn + 3H^2O$
Eau 18,18 p. 100, ZnO 27,27 p. 100 et $[\alpha]_D = \pm 0°$.

Au contraire, les chiffres concernant le ferment Effront correspondent nettement au


Lactate actif gauche $(C^3H^5O^3)^2 Zn + 2H^2O$
Eau 12,89 p. 100, ZnO 29,03 p. 100 et $[\alpha]_D = -9°$ (2).

Les eaux mères du lactate de zinc, acidulées par l'acide sulfurique, sont épuisées par l'éther. La substance obtenue par l'évaporation et cristallisation des liquides éthérés est recristallisée dans l'eau. Le poids d'*acide succinique* ainsi obtenu a été le suivant :

Bertrand. . . . 0,063 gr. (environ 0,3 p. 100 de l'acidité totale).
Effront. . . . . 0,440 gr. (environ 4 p. 100 —).

c'est-à-dire que le sucre disparu a fourni :

Bertrand . . . . **0,26** p. 100
Effront . . . . **2,59** p. 100 de cet acide.

La pureté des cristaux a été contrôlée par le point de fusion (au bloc Maquenne) et par le poids moléculaire déterminé alcalimétriquement.

On a donc trouvé entre les deux microbes les différences

(1) Le pouvoir rotatoire varie beaucoup avec la concentration.
(2) Les lactates de zinc actifs ont un pouvoir rotatoire de signe contraire à celui des acides qui leur correspondent.

remarquables que voici : le ferment Bertrand détruit dans le même temps une quantité de sucre plus grande que le ferment Effront et la transforme avec un rendement de près de 100 p. 100 en acide lactique, à côté duquel se forme une petite proportion, environ 5 p. 100 de l'acidité totale, d'autres acides (acétique, formique et succinique).

Le ferment Effront, au contraire, n'utilise que 72 p. 100 de sucre disparu pour la formation des acides, dont 30 p. 100 environ sont les acides autres que l'acide lactique.

Une différence, la plus importante, c'est la nature de l'acide lactique formé par les deux microbes; *le ferment Bertrand transforme le lactose en acide lactique inactif*, *tandis que le microbe Effront*, *dans les mêmes conditions*, *produit l'acide droit*. Il est probable que les deux microbes produisent d'abord l'acide inactif, c'est-à-dire un mélange à parties rigoureusement égales d'acide droit et d'acide gauche. Ces produits sont inattaquables par le ferment Bertrand. Le ferment Effront, au contraire, utilise une moitié, c'est-à-dire l'acide gauche et dans le milieu il ne reste, après un certain temps, que la substance dextrogyre qui, étant infermentescible, est en quantité qui correspond exactement à la *moitié* de sucre disparu.

A côté de l'acide lactique, le ferment Effront produit encore de l'*acide succinique* en proportion dix fois plus grande, et des *acides volatils* en proportion quatre fois plus grande que le ferment Bertrand.

4. Action des ferments sur le glucose, le galactose et le mannose.

Le milieu de culture possédait la même composition que dans l'essai précédent, mais au lieu du lactose on a introduit du glucose, du galactose ou du mannose en proportions respectives de 4,235 grammes, de 3,980 grammes et de 4,048 grammes, y compris une petite quantité — 0,208 gramme — d'une substance réductrice contenue dans la décoction de touraillons.

Le glucose est fermenté par les deux microbes (voir tableaux VII et VIII) très activement, surtout par le ferment Bertrand. Mais la petite quantité de substance réductrice de l'extrait de

touraillons est restée sans être utilisée. Les milieux glucosés sont très favorables à la culture des deux microbes et presque aussi bons que le lait additionné de carbonate de calcium. Tout le glucose est transformé par le ferment Bertrand en acide lactique, tandis qu'avec le ferment Effront le rendement dépasse à peine le chiffre de 71 p. 100, comme on l'a constaté aussi pour le lactose.

Tableau VII. — **Action du ferment bulgare sur le milieu glucosé.**

(*Pour* 100 *grammes de liquide.*)

AGE de la culture en jours	GLUCOSE DISPARU		ACIDITÉ en acide lactique au-dessus du carbonate de calcium milligr.	RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE			
				dans une solution de PEPTONE	DANS LE LAIT		
	milli-gr.	p. 100		VÉGÉTATION	La COAGULATION était-elle normale?	ACIDITÉ apparue en acide lactique milligr. (Après 5 à 7 jours)	CASÉINE solubilisée p. 100 (Après 5 à 7 jours)
			a) *A la température de 30 degrés.*				
5	2.970	74	—	M	+	—	—
8	3.910	97	891	M	+	2.108	9
10	2.115	53	891	M	+	—	—
15	3.675	91	—	M	+	2.315	10
19	4.027	100	198	M	+	1.890	6
24	4.027	100	198	M	+	2.221	8
29	—	—	—	M	+	1.020	5
92	4.027	100	81	M	M	M	M
140	4.027	100	—	M	M	M	M
			b) *A la température de 40 degrés.*				
2	3.061	74	—	M	+	—	—
3	3.946	98	—	M	+	—	9
5	4.027	100	—	M	+	2.110	6
30	4.027	100	—	M	+	1.440	5
90	4.027	100	—	M	+	M	M

Dans aucun cas, ni avec le glucose (voir les tableaux VII et VIII), ni avec le galactose (voir le tableau IX) ou le mannose (voir le tableau X), il n'y a eu de transformation d'un ferment dans

l'autre; même dans les cultures vieilles du ferment Bertrand, complètement dépourvues de sucre, on n'a pas observé la formation de voiles ni de spores et si le ferment n'a pas encore perdu la faculté de coaguler le lait, il n'a solubilisé que 10 p. 100 de caséine au maximum, c'est-à-dire qu'il n'a jamais échangé ses propriétés avec celles qui correspondent à un travail protéolytique.

La solution de peptone n'a jamais été favorable à la culture de ce ferment. Pareillement, les propriétés du microbe Effront, même après vingt semaines, n'ont pas changé du tout; la culture sur la peptone seule a toujours été florissante : il y a eu formation de spores et de voile à la surface des liquides et la coagulation du lait a été suivie en quelques heures d'une rapide disparition de la caséine.

Tableau VIII. — **Action du ferment Effront sur le milieu glucosé.**

(*Pour* 100 *grammes de liquide.*)

AGE de la culture en jours	GLUCOSE DISPARU		ACIDITÉ en acide lactique au-dessus du carbonate de calcium milligr.	RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE			
				dans une solution de PEPTONE	DANS LE LAIT		
	milli-gr.	p. 100		VÉGÉTATION	La COAGULATION était-elle normale?	ACIDITÉ apparue en acide lactique milligr. (Après 5 à 7 jours)	CASÉINE solubilisée p. 100 (Après 5 à 7 jours)
A la température de 30 degrés.							
3	591	15	—	+	+	620	69
7	1.055	26	270	+	+	—	—
12	1.875	47	270	+	+	—	—
16	2.570	64	198	+	+	—	—
40	4.027	100	**	+	+	504	63
143	4.027	100	—	+	+	542	65

** L'acidité apparue, calculée en acide lactique, a été de 2.871 milligrammes, c'est-à-dire que le rendement en acide lactique était 71 p. 100.

TABLEAU IX. — **Action du ferment bulgare sur le liquide galactosé.** (*Pour* 100 *grammes de liquide*)

AGE de la culture en jours	GALACTOSE DISPARU		RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE			
			dans une solution de PEPTONE	DANS LE LAIT		
	milli-gr.	p. 100	VÉGÉTATION	La COAGULATION était-elle normale ?	ACIDITÉ apparue en acide lactique milligr. (Après 5 à 7 jours)	CASÉINE solubilisée p. 100 (Après 5 à 7 jours)
			A la température de 40 *degrés.*			
2	1.358	36	M	+	2.461	9
5	2.339	62	M	+	2.406	11
14	3.772	100	M	+	—	—
21	3.772	100	M	+	2.308	8
42	3.772	100	M	+	—	5
96	3.772	100	M	M	—	—
121	3.772	100	M	M	—	—

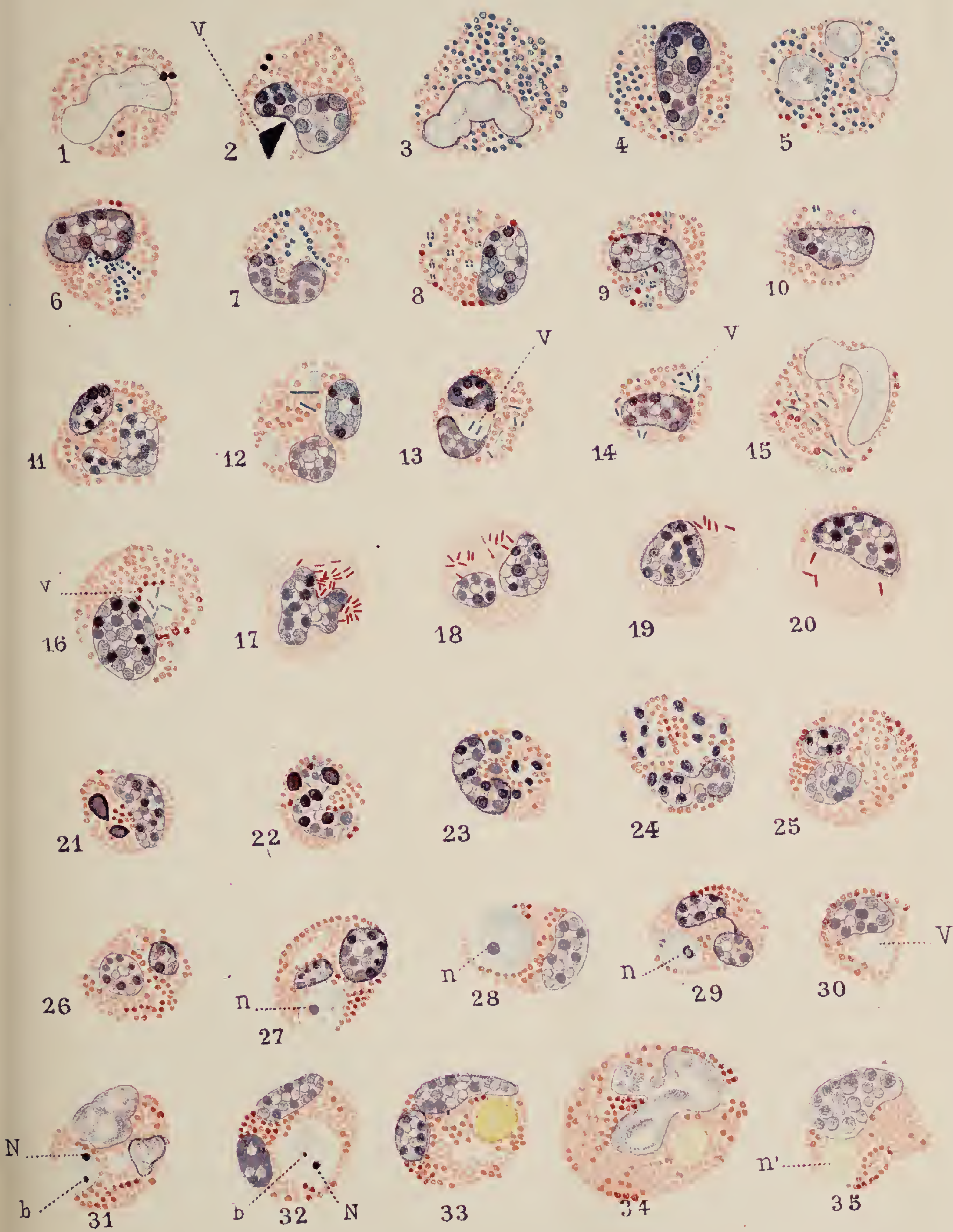
TABLEAU X. — **Action du ferment bulgare sur le liquide contenant du mannose.** (*Pour* 100 *grammes de liquide.*)

AGE de la culture en jours	MANNOSE DISPARU		RÉSULTAT D'ENSEMENCEMENT DE LA CULTURE			
			dans une solution de PEPTONE	DANS LE LAIT		
	milli-gr.	p. 100	VÉGÉTATION	La COAGULATION était-elle normale ?	ACIDITÉ apparue en acide lactique milligr. (Après 5 à 7 jours)	CASÉINE solubilisée p. 100 (Après 5 à 7 jours)
			A la température de 40 *degrés.*			
4	2.150	56	M	+	—	—
9	806	21	M	+	—	—
12	3.840	100	M	+	2.020	7
26	3.840	100	M	+	2.243	6
60	3.840	100	M	M	M	M
74	3.840	100	M	M	M	M
115	3.840	100	M	M	M	M

Le Gérant : G. MASSON.

Paris — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.

VOL. XXIX. PL. 6.
(Mém. Weinberg et Séguin.)



P. Séguin, del.

Imp. d'Art L. Lafontaine, Paris.

Constantin, lith.

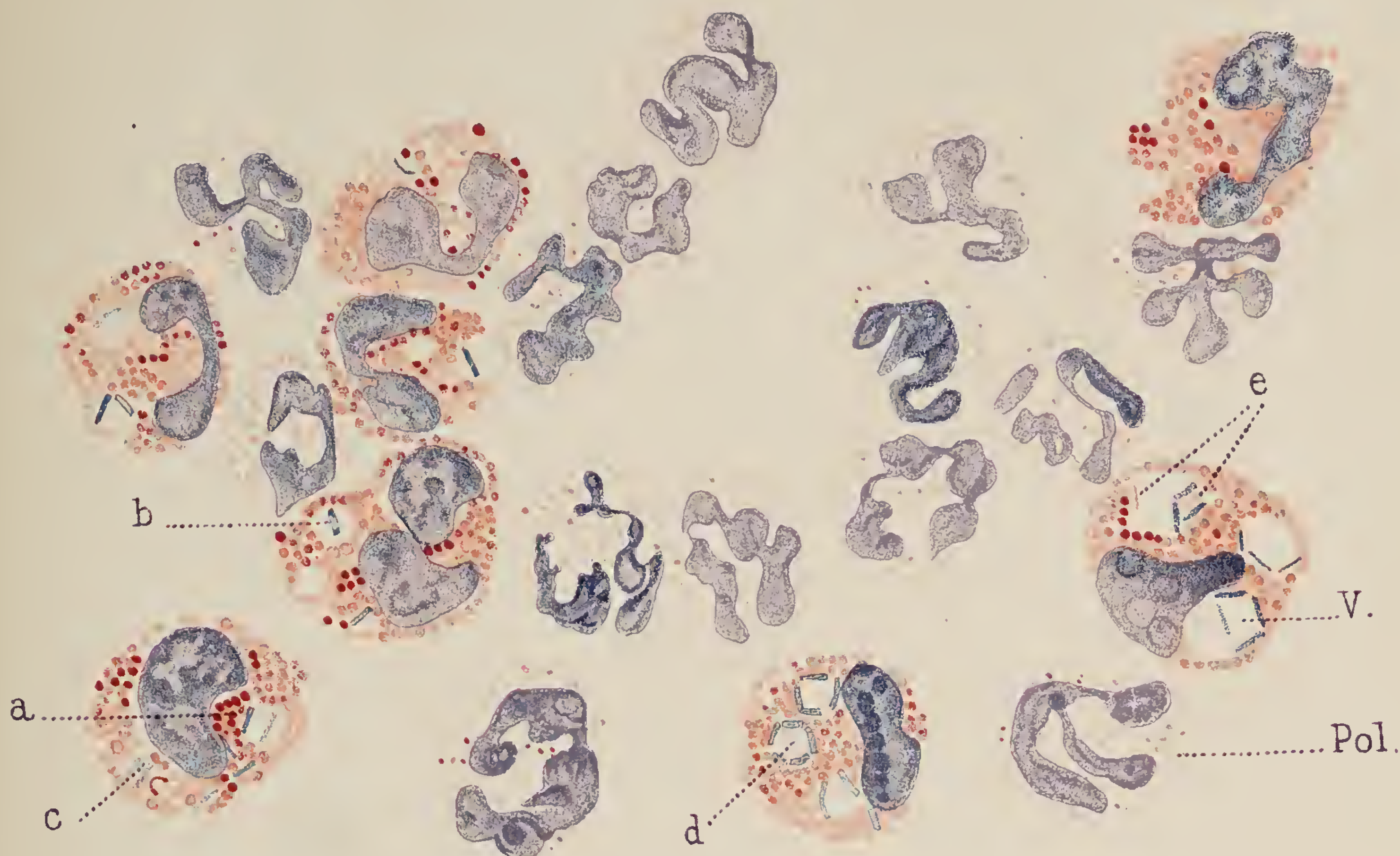


Fig. 1.

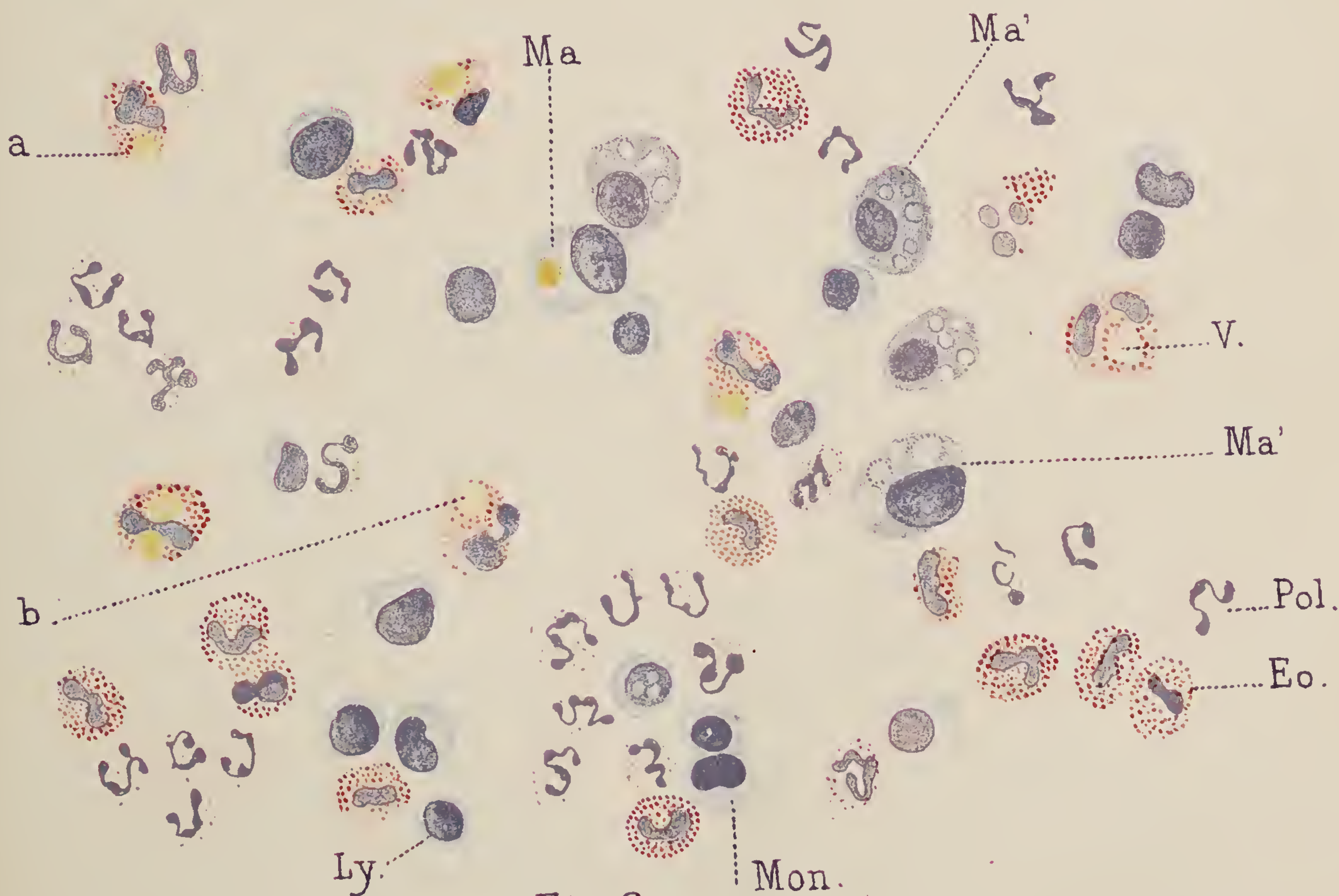


Fig. 2.

P. Séguin, del. Constantin, lith.

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

JUBILÉ DU PROFESSEUR ÉLIE METCHNIKOFF

Le 16 mai dernier, le soixante-dixième anniversaire d'Élie Metchnikoff a été célébré d'une façon toute intime, à l'Institut Pasteur. A 10 h. 1/2 du matin, les amis, les collègues, les élèves du Maître, présents à Paris, se sont réunis à la bibliothèque, sous la présidence de M. Gaston Darboux. Des membres du Conseil d'administration et de l'Assemblée de l'Institut Pasteur, des membres de l'Académie des Sciences, de l'Académie de Médecine et des représentants de la Colonie russe de Paris s'étaient joints au personnel de l'Institut Pasteur pour offrir leurs compliments au professeur Metchnikoff.

M. Darboux a rendu hommage à Metchnikoff au nom de l'Académie des Sciences et du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur. Puis il a lu une lettre du Dr Roux que la maladie tenait éloigné de la cérémonie.

M. Mesnil a donné connaissance d'un grand nombre de lettres et de télégrammes de félicitations adressés par les disciples de Metchnikoff et par diverses Sociétés savantes. S'honorant d'être le plus ancien des élèves présents de M. Metchnikoff, M. Mesnil lui a exprimé la reconnaissance de tous ceux qui ont travaillé sous son inspiration.

M. Metchnikoff a remercié pour les vœux qui lui étaient adressés en ce jour, et, dans une causerie, il a exposé ses idées sur la vieillesse prématurée et les moyens de l'éviter.

LETTRE DE M. É. ROUX

Paris, 15 mai 1915.

Cher Élie Metchnikoff,

Je maudis l'indisposition qui me retient à la chambre, puisqu'elle m'empêche de vous dire, à l'occasion de votre 70e anniversaire, en présence de nos amis, au nom de vos collègues et de vos élèves, notre admiration pour votre œuvre scientifique et notre affection pour votre personne.

Si, comme le prétend le proverbe, le temps bien employé paraît court, combien ont dû vous sembler brèves les soixante-dix années que vous avez vécues!

Dès votre enfance, vous avez manifesté le goût le plus vif pour la science de la nature, et, à dix ans, vous étiez déjà un sagace observateur des plantes et des insectes. La vivacité de Metchnikoff écolier, son avidité pour apprendre, son aptitude à tout comprendre, nous les imaginons facilement, nous, qui sommes, tous les jours, témoins de l'entrain que vous apportez dans la recherche et de l'émotion que vous éprouvez devant une belle expérience.

C'est, je crois, à dix-huit ans que vous avez publié votre premier travail, non pas travail d'étudiant qui promet, mais travail de maître, contenant une belle et bonne découverte et en faisant prévoir d'autres. Puis, les mémoires succèdent aux mémoires et bientôt vous êtes agrégé à l'Université de Petrograd et chef d'école; car, vous orientez l'embryologie dans la voie où elle s'est heureusement développée.

Je me garderai bien de m'étendre sur votre œuvre zoologique dont je ne pourrais parler qu'en profane. Je ne dirai de votre carrière de professeur à Petrograd et à Odessa que ce que j'ai entendu de la bouche de vos anciens élèves. Non seulement, vous les intruisiez, mais encore vous leur inspiriez l'enthousiasme scientifique. Qui assistait à vos leçons voulait devenir naturaliste. A l'autorité d'un maître sachant communiquer sa science, vous joigniez celle d'un caractère prêt à céder la place, plutôt que de s'associer à une mesure injuste. Tel qu'on vous a dépeint à moi, vous étiez professeur plein de feu, prodigue

d'idées neuves, faisant naître les bons travaux, éclore les jeunes talents et de plus champion du bon droit contre la faveur. Aussi, quel ascendant vous aviez pris sur les étudiants et de combien de regrets ont-ils accompagné votre départ!

Au moment où vous quittiez Odessa, Pasteur et ses collaborateurs venaient de publier l'étonnante série des travaux sur l'atténuation des virus et les vaccinations préventives. La question de l'immunité, posée depuis si longtemps, pouvait enfin être étudiée commodément, puisqu'il était possible de rendre réfractaires les animaux de laboratoire. Vous aussi, vous y pensiez à cette question de l'immunité, et vous y pensiez en naturaliste et en philosophe. Vous y aviez été conduit par vos observations sur la digestion chez les êtres inférieurs. Il est donc tout naturel que vous ayez pris le chemin du laboratoire de Pasteur et il est tout naturel aussi que Pasteur vous ait accueilli avec empressement, car vous ne lui apportiez rien moins qu'une doctrine de l'immunité.

Jusqu'à vous, ceux qui avaient abordé le sujet l'avaient pris par le mauvais bout, en l'étudiant chez les animaux supérieurs. Comment, en effet, suivre un virus et les changements qu'il détermine dans un être aussi compliqué qu'un lapin ou même qu'une grenouille? Comment débrouiller le rôle de l'appareil circulatoire, du système nerveux, celui des cellules et des humeurs ?

Avec quelle admirable ingéniosité vous avez tourné la difficulté !

Vous placez sous l'objectif du microscope un de ces êtres transparents composé seulement de quelques cellules s'offrant à l'œil de l'observateur, et, au moyen d'une piqûre délicate, vous y introduisez quelques microbes. Si l'animalcule inoculé est sensible, vous assistez au développement du virus et à l'envahissement des tissus ; s'il est naturellement réfractaire vous voyez par quel procédé il se débarrasse du parasite. Rien de ce qui se passe entre l'organisme et le microbe ne vous échappe; le cas est si simple que l'interprétation des faits se présente d'elle-même.

Sur le porte-objet du microscope, vous faites passer successivement des organismes de plus en plus compliqués et vous les infectez tour à tour; puis, vous étendez vos études aux

êtres supérieurs. De toutes ces observations, il résulte avec évidence que chez les êtres naturellement réfractaires, les microbes sont la proie de cellules douées de mouvement capables de les englober et de les digérer.

Les choses se passent de la même façon chez les animaux qui ont acquis l'immunité, les inoculations préventives ayant accoutumé graduellement les phagocytes aux microbes et à leurs produits.

Voici de grands résultats obtenus avec des moyens bien simples, et c'est là le propre du génie.

Aujourd'hui, mon cher ami, vous considérez cette doctrine de la phagocytose avec la tranquille satisfaction d'un père dont l'enfant a fait un beau chemin dans le monde. Mais que de tracas elle vous a causés! Son apparition a provoqué des protestations et des résistances et pendant vingt ans vous avez combattu pour elle. Il faut avoir vécu dans votre intimité, pendant cette période de lutte, pour comprendre combien la recherche scientifique peut procurer de joies et aussi de tourments à celui qui est passionné pour elle. Vous n'évitiez aucune occasion de vous expliquer; je vous vois toujours, au Congrès de Budapest, en 1894, discutant avec vos contradicteurs, le visage enflammé, l'œil brillant, les cheveux embrouillés, vous aviez l'air du démon de la science; mais votre parole et vos arguments irrésistibles soulevaient les applaudissements de l'auditoire.

Les faits nouveaux, qui semblaient tout d'abord contraires à la théorie phagocytaire (Phénomène de Pfeiffer, immunité antitoxique, production des anticorps), entraient bientôt en harmonie avec elle. Elle s'est trouvée assez compréhensive pour concilier les tenants de la théorie humorale et les partisans de la théorie cellulaire.

La doctrine de la phagocytose est certainement une des plus fécondes de la biologie; elle rattache les phénomènes de l'immunité à ceux de la digestion intracellulaire, elle nous explique le mécanisme de l'inflammation et celui des atrophies. Elle a vivifié l'anatomie pathologique qui, dans son impuissance à fournir des interprétations acceptables, était restée purement descriptive.

L'observation du rôle des macrophages dans la disparition

des éléments nobles des organes altérés vous a conduit à vous occuper des dégénérescences. Beaucoup d'entre elles sont la conséquence des maladies infectieuses et partant évitables; quant à celles, attribuées communément à la vieillesse, elles sont, d'après vous, presque toujours prématurées. Elles relèvent d'une intoxication chronique ayant son origine dans la fermentation des matières dans le gros intestin. Vous nous avertissez que c'est manquer de prévoyance que d'abandonner à elle-même notre flore intestinale. Nous devons peupler notre tube digestif de microbes bienfaisants et en éliminer les microbes nuisibles. Une grande partie de nos misères physiques et de nos misères morales sont dues à cette végétation sauvage de l'intestin. Sans elle, nous atteindrions l'âge de la vieillesse normale qui ne connaît pas l'appréhension de la mort. Vous avez développé le sujet dans vos essais de philosophie optimiste, qui sont bien l'œuvre la plus originale et la plus suggestive que je connaisse.

Vous n'en êtes pas resté aux spéculations, et, avec votre activité coutumière, vous avez entrepris l'étude de la flore intestinale, étude compliquée s'il en fût, que nous avons tous intérêt à voir pousser à bien, puisque son but est la prolongation de l'existence humaine.

En attendant d'avoir accompli ce grand œuvre, vous trouvez le microbe du choléra infantile et vous essayez de conserver la vie aux nourrissons que ce fléau fauche par milliers, surtout durant la saison chaude.

Dans vos travaux de bactériologie on devine toujours le naturaliste; que vous avez bien fait de vous souvenir de vos origines! C'est le zoologiste que vous êtes, qui a écrit cet excellent chapitre de physiologie générale, sur le moment où apparaît, dans l'échelle des êtres, la sensibilité aux poisons microbiens et la propriété d'élaborer des antitoxines. C'est encore le zoologue qui a choisi les singes anthropomorphes pour l'étude expérimentale de certaines maladies propres à l'homme. Vos recherches sur la syphilis du Chimpanzé ont donné l'impulsion à la série de travaux qui ont tant fait progresser nos connaissances sur cette grave affection.

Quand, il y a vingt-sept ans, vous êtes entré dans cet Institut qui venait d'être construit, vous désiriez seulement deux

petites pièces où vous puissiez travailler en paix. Vous vous étiez installé au rez-de-chaussée, au fond du couloir de gauche, avec Mme Metchnikoff comme préparateur. Ces deux chambres où vous vouliez vous isoler ont été bientôt envahies par les travailleurs en quête d'un guide et d'un sujet de recherches. Vous deviez monter au second étage, dans un local plus vaste où vos disciples pourraient trouver place. A Paris, comme à Petrograd, comme à Odessa, vous deveniez chef d'école, et vous avez allumé, dans cet Institut, un foyer scientifique qui a rayonné au loin.

Votre laboratoire est le plus vivant de la maison, les travailleurs s'y pressent à l'envi. C'est là qu'on discute l'événement bactériologique du jour, que l'on examine la préparation intéressante, qu'on vient chercher l'idée qui sortira l'expérimentateur des difficultés où il est empêtré. C'est à vous qu'on demande le contrôle d'un fait récemment observé, qu'on dévoile la découverte qui souvent ne survit pas à votre critique. Et puis, comme vous lisez tout, que vous savez tout, chacun puise en vous le renseignement dont il a besoin, la substance d'un mémoire qui vient de paraître et qu'il ne lira pas. Cela est bien plus commode que de chercher à la bibliothèque et aussi plus sûr, car on évite ainsi les erreurs de traduction et d'interprétation. Votre érudition est si vaste et si certaine qu'elle sert à toute la maison. Pour ma part, que de fois je vous ai mis à contribution ! On ne craint pas d'abuser de vous, parce qu'aucune question scientifique ne vous trouve indifférent. Votre ardeur réchauffe l'indolent et donne confiance au sceptique.

Vous êtes un collaborateur incomparable, j'en sais quelque chose, puisque j'ai eu la bonne fortune d'être associé plusieurs fois à vos recherches. En vérité, vous faisiez toute la besogne.

Plus encore que votre science, votre bonté attire; qui de nous ne l'a ressentie! J'en ai eu la preuve touchante lorsque, à diverses reprises, vous m'avez soigné comme votre enfant. Vous êtes si heureux d'obliger que vous avez de la reconnaissance pour ceux à qui vous rendez service. Pas plus que vous, Mme Metchnikoff ne sait refuser à qui sollicite, et, selon l'expression populaire, votre maison est une maison du bon Dieu.

L'intimité de cette réunion permettant d'y parler à cœur ouvert, je dirai que ne pas donner vous est si pénible que vous aimez mieux être exploité que de fermer la main.

L'Institut Pasteur vous doit beaucoup, vous lui avez apporté le prestige de votre renommée et par vos travaux et ceux de vos élèves, vous avez largement contribué à sa gloire. Vous y avez donné l'exemple du désintéressement en refusant tout traitement pendant les années où le budget s'équilibrait difficilement, et en préférant aux situations glorieuses et lucratives qui vous étaient offertes la vie modeste de cette maison. Resté Russe de nationalité, vous êtes devenu Français par votre choix et vous avez contracté avec l'Institut Pasteur une alliance franco-russe, longtemps avant que les diplomates en aient eu l'idée.

Si nous vivions dans des temps ordinaires, cette salle serait trop petite pour contenir les fils spirituels, les amis, les admirateurs accourus de tous les pays pour fêter vos soixante-dix ans. Dans les circonstances tragiques où nous sommes, quelques amis seulement se pressent autour de vous. Ceux de vos élèves qui font leur devoir à l'armée m'ont expressément chargé d'être l'interprète de leurs sentiments d'affectueuse vénération. D'autres certainement pensent à vous en ce jour, ils ne peuvent le manifester puisqu'ils sont sous le joug de l'ennemi. Je veux parler de Calmette, enfermé dans Lille, et de Bordet et de Massart, retenus à Bruxelles. Je connais assez leur cœur pour prendre sur moi de vous offrir les hommages qu'ils ne peuvent vous adresser eux-mêmes.

Mon cher Élie Metchnikoff, à soixante-dix ans, après un labeur qui suffirait à illustrer plusieurs savants, vous êtes en belle santé, plein d'activité et d'idées, aussi, nous ne vous souhaitons pas un repos incompatible avec votre tempérament, mais une nouvelle période de glorieux travaux.

Excusez, mon cher ami, ces lignes écrites en hâte, dans une chambre de malade, elles exposent votre œuvre d'une façon bien indigne d'elle ; cependant, elles auront atteint leur but si vous y sentez l'affection et la reconnaissance de tous ceux qui, absents ou présents, m'ont prié de parler en leur nom.

D[r] Roux.

CAUSERIE DE M. É. METCHNIKOFF

Monsieur le Président,
Mesdames,
Messieurs,

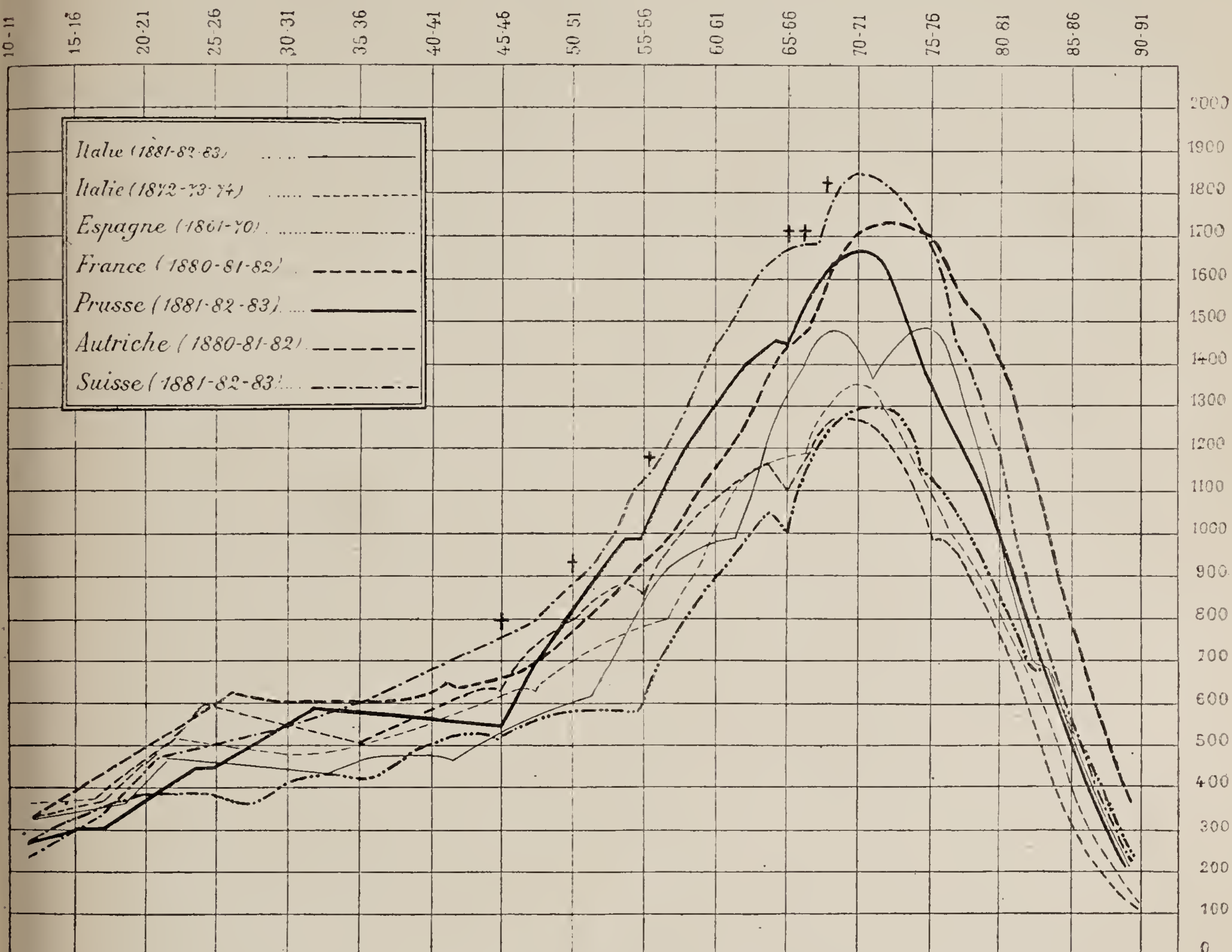
Je suis vraiment confus de ce qu'en ce moment, lorsque toute l'attention est absorbée par une lutte gigantesque, vous vous soyez rappelé un événement aussi minuscule que mon soixante-dixième anniversaire. Je vous remercie tous bien sincèrement. Je remercie tout particulièrement notre honoré Président, M. Gaston Darboux, de son discours si bienveillant à mon égard. Je remercie, non moins, notre cher Directeur, M. Roux, qui m'a comblé de bonnes paroles capables d'illusionner l'homme le plus sceptique sur sa valeur.

Puisque nous nous trouvons réunis ici, je saisis cette occasion pour remercier l'Institut Pasteur du si bon accueil qu'il m'a fait durant les vingt-sept ans écoulés depuis sa fondation. C'est ici, dans le calme du laboratoire, en dehors de toute fonction étrangère au travail rigoureusement scientifique, que j'ai pu développer mes idées et arriver tranquillement à la fin de ma carrière. Car, il faut bien s'y résigner, soixante-dix ans constituent le terme de la vie active, dans les conditions présentes. Et c'est pour cette raison qu'on le célèbre d'une façon toute particulière.

Depuis les temps les plus reculés il a été proclamé par le roi David que « la vie des hommes est de soixante-dix années. Chez les plus forts elle va jusqu'à quatre-vingts ans ; au delà, il n'y a plus que labeur et douleur ». Depuis, cet âge de soixante-dix ans a été désigné comme la limite naturelle de la vie normale. Il a été bien établi et souvent confirmé que c'est vers l'âge de soixante-dix, soixante et onze ans qu'il se produit le plus de décès (abstraction faite des premières années de l'enfance).

Voici le tableau du statisticien italien Bodio qui en fournit la preuve. Je dois me considérer comme particulièrement heureux d'avoir atteint le sommet de cette montagne, ce qui n'est

pas toujours facile. On pense souvent que la longévité est une qualité héréditaire. C'est ainsi que le célèbre inventeur de l'antisepsie, Lister, a pu atteindre l'âge de quatre-vingt-cinq ans, appartenant à une famille dont les membres vivaient longtemps. Son père est mort à quatre-vingt-trois ans, et son grand-père à quatre-vingt-treize ans. Tel n'est pas mon cas.



Mortalité aux différents âges, rapportée pour chaque pays à 100.000 naissances.

Mes grands-parents, mes parents, mes frères et ma sœur, tous ont disparu avant d'avoir atteint mon âge (les petites croix marquées sur le tableau indiquent l'âge de la mort de mes parents, de mes frères et de ma sœur). Je suis tenté d'expliquer ma longévité par le régime hygiénique auquel je me suis soumis depuis un certain nombre d'années, régime basé sur la conviction de la grande nocivité de notre flore intestinale. Une idée répandue prétend que les microbes de notre tube digestif se trouveraient en symbiose avec l'organisme

humain; je soutiens la thèse contraire. Je pense que nous nourrissons un grand nombre de microbes nuisibles qui raccourcissent notre existence en provoquant la vieillesse précoce et douloureuse. Aux arguments tirés de l'étude de la flore intestinale on peut en ajouter un autre qui est de toute actualité. Tous les jours, pendant cette guerre interminable, on voit des plaies s'infecter, avec des bacilles de Welch (*perfringens*), des streptocoques et encore d'autres bactéries provenant toutes des matières issues du tube digestif. Ce ne sont donc pas sûrement des hôtes inoffensifs, mais bien des agents de maladie et de mort.

Persuadé de la nocivité de notre flore intestinale, j'ai institué depuis plus de dix-huit ans, dans l'intention de combattre son action néfaste, une expérience sur moi-même, je m'abstiens de toute nourriture crue et, de plus, j'ai introduit dans mon régime des microbes lactiques capables d'empêcher la putréfaction intestinale. Ce n'est, bien entendu, que le premier pas dans la direction que je poursuis. En dehors des agents putréfiants, notre flore abonde en d'autres microbes capables de nous nuire. Je cite notamment les bactéries productrices d'acide butyrique, poison qui altère nos organes les plus précieux. L'étude des moyens pour lutter contre ces microbes a été interrompue à cause de la guerre qui a nécessité la suppression des animaux d'expérience. Mais, déjà, dès le début de mes recherches, j'ai acquis la conviction que la pullulation des bacilles butyriques ne dépend pas uniquement de la qualité de la nourriture. Avec exactement le même régime certains singes hébergent une grande quantité de ces microbes, tandis que d'autres individus de même espèce n'en contiennent pas du tout. Ces recherches m'ont persuadé que la flore intestinale subit une orientation dès les premiers moments après le sevrage. Il faut donc, pour obtenir une bonne flore intestinale, ensemencer les microbes utiles et éliminer les microbes nuisibles dès la première enfance. Les expériences à ce sujet devraient être faites dans des asiles d'enfants et dans des singeries dans lesquelles on tacherait d'élever des singes. D'un autre côté les asiles de vieillards pourraient servir pour l'étude des régimes alimentaires capables d'assurer la vieillesse normale et la plus grande longévité. Tandis que pour le moment il

faut se considérer comme favorisé si on arrive à soixante-dix ans encore capable de continuer l'œuvre de sa vie, dans l'avenir la limite actuelle pourra certainement être reculée de beaucoup. Seulement, pour atteindre ce résultat, un long travail scientifique est à faire. A côté des recherches sur le rôle de la flore intestinale comme agent de vieillesse précoce avec ses lésions vasculaires, nerveuses et autres, la macrobiotique scientifique, qui est presque toute à fonder, devra étudier les maladies des vieillards, parmi lesquelles les pneumonies et les tumeurs malignes occupent une place prépondérante. L'idée adoptée par notre Institut et si bien défendue par Borrel, sur l'origine exogène des cancers, doit servir de base aux recherches nouvelles. Il y aurait lieu d'abord de faire des observations dans les asiles de vieillards. Si réellement il existe un virus cancéreux, le régime d'aliments stériles et la propreté de la peau doivent préserver les hommes contre l'action funeste de ce virus.

La macrobiotique rationnelle est une science de l'avenir; mais pour le moment il faut se contenter d'une vie normale à soixante-dix ans. Heureusement qu'à cet âge déjà, au moins chez quelques individus à évolution raccourcie (au nombre desquels je crois appartenir), la peur instinctive de la mort commence à s'effacer et à céder la place au sentiment de la satisfaction de l'existence et au besoin du néant. Nous touchons ici à un des plus grands problèmes qui préoccupent l'humanité depuis les temps les plus reculés. Etant donné que ce problème était abordé par les penseurs à l'âge où le désir de vivre est le plus prononcé, on arrivait à une conception pessimiste de la vie, parce qu'on ne pouvait pas se présenter un état d'âme dans lequel ce désir ne se faisait plus sentir. Ce sont, notamment, les poètes et les romanciers qui s'occupaient de cette question. Parmi eux, s'est distingué surtout Tolstoï, qui l'a traitée à diverses reprises et qui a donné le meilleur récit de la peur de la mort. Par l'organe d'un de ses personnages, il avoue que pendant de longues années il n'avait jamais pensé à « une petite circonstance, le fait que la mort arrivera et que tout sera fini, qu'il ne valait pas la peine d'entreprendre quoi que ce soit et qu'il est impossible de remédier à cela. C'est terrible, mais c'est ainsi », conclut-il. En poursuivant ses

réflexions pessimistes, il ajoute : « Si ce n'est pas aujourd'hui, cela sera demain, et si cela n'est pas demain, mais seulement dans trente ans, est-ce que ce n'est pas toujours la même chose ? » (*Anna Karénina*). Non, ce n'est pas du tout la même chose. Tolstoï, qui était certainement un très grand connaisseur de l'âme humaine, ne se doutait pas que l'instinct de la vie, le besoin de vivre, n'est pas le même aux différents âges. Peu développé chez les jeunes gens, il domine d'une façon très intense à l'âge mûr et surtout pendant la vieillesse. Mais, arrivé à une vieillesse avancée, l'homme commence à éprouver un sentiment de satisfaction vitale, une sorte de satiété qui amène une répulsion devant l'idée d'une vie perpétuelle. Dans les conditions actuelles, cet état d'âme ne se manifeste que dans des cas exceptionnels, car très rares sont les individus qui arrivent à une vieillesse très avancée, ayant conservé leur intelligence intacte. Mais dans l'avenir, lorsque l'hygiène rationnelle aura fixé les règles d'une vie normale, l'exception d'aujourd'hui deviendra loi générale.

Lorsque les préoccupations du moment présent, dominées par la guerre mondiale, seront depuis longtemps reléguées dans les archives, les problèmes de la vie et de la mort garderont leur place prépondérante. Il faut espérer que les travaux de notre Institut, auxquels je ne pourrai plus prendre part, contribueront largement pour permettre aux hommes de l'avenir d'atteindre la limite normale de la vie, bien plus longue qu'elle n'est aujourd'hui.

Élie Metchnikoff.

SUR QUELQUES CAS
DE TÉTANOS LOCALISÉ A LA RÉGION BLESSÉE
TÉTANOS MÉDULLAIRE

par M. le Dr MONTAIS (des Lilas),
Aide-major à l'Hôpital 18, à Poitiers.

Le tétanos classique, à symptômes bulbaires prédominants, fréquent au début de la campagne, est actuellement beaucoup plus rare depuis que la grande majorité des blessés bénéficie de l'injection préventive; en revanche, on observe fréquemment, nous semble-t-il, des cas localisés à la région blessée pendant toute leur évolution ou parfois affectant une allure ascendante pour aboutir exceptionnellement aux troubles bulbaires, avec ou sans trismus. Le tétanos humain, sans trismus ou à trismus tardif, était à peu près ignoré jusqu'ici; dépourvu de son signal d'alarme, ce tétanos décapité peut être souvent méconnu pour le plus grand danger de l'entourage, aussi avons-nous cru de notre devoir de publier d'urgence nos cas.

Obs. I. — *Tétanos chronique*, localisé au membre blessé, observé dans le service du Dr Vialle, médecin-chef à l'Hôpital 18.

Lab..., blessé le 22 novembre, à Saint-Éloi; injecté par nous le 26, dès son arrivée. La face externe du membre inférieur gauche, de la hanche au talon, est criblée d'éclats d'obus (une trentaine); quelques-uns ont traversé de part en part; le plus grand nombre est resté dans l'épaisseur accompagné de nombreux débris de vêtements qui ont déterminé autant d'abcès gazeux nécessitant des débridements, drainages et irrigations répétées d'eau oxygénée. Pas de lésions osseuses, ni nerveuses importantes. La désinfection de tous ces foyers fut rapide; le blessé n'eut de fièvre que les premiers jours.

Vers le 5 décembre, il commence à se plaindre, à l'occasion des pansements, de crampes prolongées qui enraidissent le membre blessé en extension. Ces sortes de crampes s'accentuent les jours suivants à propos des contacts, des pansements, des moindres mouvements de la région. Ce sont des contractures massives, douloureuses, étendues en bloc à tout le membre blessé qui devient rigide, dur comme du bois. Dans l'intervalle, le membre

reste encore trop ferme, en extension, le pied à angle droit. Cet état de contracture est permanent, même pendant le sommeil; il va en s'accentuant une dizaine de jours pour rester stationnaire une quinzaine, puis décroître insensiblement. Jamais de trismus, ni de raideur de la nuque; rien au membre inférieur droit, sauf exagération des réflexes. Toute excitation ou tout mouvement du membre atteint déclanche une secousse dans toute son étendue, tandis que toute excitation portée en dehors de lui reste sans effet. Négative également la percussion de l'orbiculaire des lèvres et celle qu'on pratique à mi-distance entre le zygoma et la commissure labiale. Ni fièvre, ni tachycardie, ni aucun trouble de l'état général.

Traitement. — Chloral, 6 grammes par jour; morphine la nuit; 10 cent. cubes de sérum une fois par semaine; ainsi pendant un mois.

En février, les secousses douloureuses ont disparu, la raideur est diminuée; le blessé commence à marcher un peu, quoique avec beaucoup de peine. Ses plaies sont fermées; on extrait sous le chloroforme plusieurs éclats du mollet et du talon. Amélioration plus rapide à la suite. Il persiste un état d'hypertonicité musculaire qui redevient de la dureté et de la raideur à l'occasion des mouvements. La chaleur améliore cet état, le froid l'augmente. En avril, le blessé marche mieux, sans faucher, en déplaçant son membre inférieur d'un seul morceau, en extension, le pied à angle droit. Cette démarche est très fatigante : tous les mouvements volontaires ou passifs sont possibles; mais ils provoquent de la raideur et nécessitent des efforts constants. En mai, la chaleur aidant, le syndrome tétanique paraît tout à fait éteint; la fermeté et la souplesse des masses musculaires sont redevenues à peu près normales; de même pour les mouvements provoqués, mais les mouvements volontaires demandent encore un peu d'effort.

La radiographie montre encore trois éclats : un en haut de la cuisse (face antérieure), un dans le mollet, un dans le calcanéum.

Les réflexes rotuliens des deux côtés continuent à diminuer, tendant vers la normale.

Obs. II. — *Tétanos* à début localisé au membre blessé, à allure ascendante.

Ch..., vingt-deux ans, blessé le 13 mars, à Beauséjour, deuxième pansement et sérum le 16, en gare de Vitry-le-François, plus de trois jours après.

A son arrivée à Poitiers, le 18, on constate que deux balles ont perforé chacune la face postérieure des deux cuisses. Plaies cutanées peu importantes, mais dégâts musculaires sérieux par effet explosif (balles tirées à une centaine de mètres). Plaies très infectées, surtout celles de la cuisse gauche. Pas de lésions osseuses ni nerveuses. Le pied gauche est en varus équin très prononcé, fixé par une contracture musculaire continue non douloureuse; cette attitude s'est produite à l'insu du blessé, vraisemblablement pendant le transport; elle persistera pendant toute la durée de l'affection (le blessé a naturellement les pieds creux, très mobiles et il donne à volonté la même attitude à l'autre pied momentanément).

Les jours suivants, le pied bot gauche s'accentue; tout le membre devient

rigide, de la crète iliaque aux orteils, fixé en hyperextension par la contracture musculaire permanente qui lui donne la dureté du bois.

Le 21, quelques secousses convulsives douloureuses dans tout le membre gauche à l'occasion du pansement.

Sérum, 20 cent. cubes. Plaies débridées, drainées, grand lavage quotidien à l'eau oxygénée.

Le 22, secousses de plus en plus fréquentes, intenses et prolongées, survenant même en dehors de toute excitation; contractures et secousses s'étendent aussi au membre droit, mais moins intenses. Jamais aucune ébauche de trismus ni de raideur de la nuque. La température est de 38 degrés à l'arrivée, atteint 39°5 le soir du 22; pouls en concordance. Malade isolé, plusieurs piqûres de morphine par jour, 15 grammes de chloral; trois fois par jour, puis quatre fois par jour, injection de 10 cent. cubes d'eau phéniquée à 3 p. 100.

Le 23, tous les phénomènes s'aggravent de plus en plus, ébauche de contracture de la paroi abdominale : on ajoute au traitement précédent une injection intrarachidienne de 7 cent. cubes de solution de sulfate de magnésie à 15 p. 100 après soustraction d'une quantité supérieure de liquide céphalo-rachidien; la tête du malade est surélevée et des billots de bois sont placés à demeure sous les pieds du lit correspondants. Effet sédatif rapide et complet; pendant vingt-quatre heures plus de secousses, aucune douleur, sommeil tranquille à peu près permanent sous l'influence du chloral; le membre blessé garde son attitude fixe d'extension avec varus équin, mais sa contracture est atténuée. Rétention complète des matières et des urines, qui persistera huit jours, ventre ballonné, fréquentes émissions gazeuses involontaires.

Le 24 mars, température : 39°5, le soir; pouls à 140, respiration à 40, sueurs profuses, urines extraites à la sonde : un litre et demi. Le blessé s'alimente normalement et boit beaucoup de lait.

Après 24 heures d'accalmie, les secousses convulsives reprennent progressivement sans toutefois devenir aussi intenses.

Le 25, deuxième injection intrarachidienne de sulfate de magnésie (10 cent. cubes à 15 p. 100), l'effet sédatif est moins complet et moins durable, mais depuis lors la marche envahissante du tétanos est enrayée : les secousses spasmodiques s'espacent et s'atténuent rapidement, ne se reproduisant plus qu'à l'occasion des pansements.

Au membre inférieur droit, raideur et secousses n'ont été qu'ébauchées et pour quelques jours seulement; réflexes tendineux exagérés pour longtemps.

La température baisse, plus de fièvre à partir du 28; cette défervescence a coïncidé avec le progrès de la désinfection des plaies (la température a paru, du reste, tout à fait indépendante de l'évolution du tétanos). Après la défervescence les sueurs profuses, la polypnée à 40, et la tachycardie à 120 persistent encore régulières une dizaine de jours, pour s'effacer ensuite en lysis, la tachycardie disparaît la dernière; elle était encore à 90 plus d'un mois après la blessure. État général toujours excellent. La dureté et la rigidité du membre inférieur vont en s'atténuant; au bout d'un mois, le blessé peut ébaucher quelques mouvements spontanés des orteils et du pied, mais le pied bot varus équin et l'extension du genou persistent encore longtemps, quoique de moins en moins raides.

Au 1er juin, le genou peut être à demi fléchi, plus de varus, mais l'équinisme résiste, les tentatives de réduction sont douloureuses.

Aux deux membres inférieurs hyperréflectivité.

OBS. III. — *Tétanos* tardif,[1] localisé au membre blessé, observé dans le service du Dr Latronche, chirurgien de l'Hôpital 101.

Boul..., trente-deux ans, colonial, blessé à Beauséjour, le 1er avril. Injecté le 3, quarante heures après. Arrivé le 5 à Poitiers. Deux plaies par éclat d'obus à la jambe gauche, très infectées, l'une à la face externe, l'autre à la face antérieure, un peu au-dessus du cou-de-pied, intéressant légèrement les tendons extenseurs et le tibia.

Depuis le 24, raideur insidieuse, progressive du membre blessé, qui tend à se fixer en extension et équinisme.

Le 26 avril, ouverture et curettage de la plaie antérieure qui va désormais s'améliorer rapidement, l'autre plaie est déjà guérie. Le 29, raideur modérée de tout le membre, exagérée par les excitations locales; rien au membre opposé, sauf exagération des réflexes; pas de trismus, nuque souple, aucun phénomène général, pouls à 70, température normale.

Traitement. — Deux fois par jour, puis trois fois, injection de 10 cent. cubes d'eau phéniquée à 3 p. 100; 5 grammes de chloral, bientôt portés à 15 grammes, 20 cent. cubes de sérum antitétanique chaque semaine.

A partir du 1er mai, à la raideur permanente s'ajoutent des secousses spasmodiques très douloureuses, de plus en plus fréquentes, à l'occasion des pansements, de tout contact ou mouvement du membre.

Depuis le 3 mai, tachycardie à 100, assez fixe.

De la crête iliaque à la pointe du pied, le membre gauche est raide et dur comme une pièce de bois. Rigidité et secousses sont en progrès jusqu'au 9 mai, ensuite elles commencent à diminuer lentement.

Le 10 mai, urines verdâtres, troubles, suppression du phénol.

Le 25 mai, secousses à peu près disparues ainsi que la tachycardie; la raideur étendue de la fesse aux orteils ne s'atténue qu'insensiblement.

Au commencement de juin, le genou commence à pouvoir être fléchi légèrement, le réflexe rotulien gauche se montre exagéré comme à droite.

L'équinisme et la flexion des orteils sont encore irréductibles; les tentatives de mobilisation exagèrent momentanément la contracture.

OBS. IV. — *Tétanos* de la paroi lombo-abdominale, prédominant à droite par plaie pariétale du ventre à droite, observé dans le service de M. le médecin-major Malapert, médecin-chef de l'Hôpital 39.

Fer..., atteint le 25 mai, à Notre-Dame-de-Lorette, par plusieurs petits éclats d'obus, injecté à Poitiers le 28 mai.

Petite plaie pénétrante du genou gauche avec épanchement articulaire bien toléré; large séton infecté à travers le biceps brachial droit; plaie de la paroi abdominale située verticalement au-dessus de l'épine iliaque. A. S. droite, à mi-distance entre cette épine et le rebord costal, plaie peu infectée

en apparence : à peine de suppuration, pas de réaction inflammatoire au voisinage ni de sensibilité spéciale ; aucune réaction du péritoine ni des organes intra-abdominaux.

Depuis le 4 juin, insidieusement, la paroi abdominale devient sensible au toucher, dure et comme tendue.

A partir du 6, le blessé présente de la lordose lombaire avec un peu de scoliose à concavité droite, reins cambrés, flanc droit incurvé; la musculature lombo-abdominale et lombaire droite surtout est dure, contracturée. Cette attitude fait bomber le ventre, sur tout l'épigastre. De plus toutes les cinq à six secondes, le ventre est projeté en avant par une secousse douloureuse de toute la paroi lombo-abdominale; ces secousses rythmées figurent un pseudo-hoquet interminable auquel le diaphragme paraît assez étranger, car ces secousses n'ont aucun effet inspiratoire. Elles s'accompagnent d'un léger mouvement de flexion de la cuisse droite.

La musculature lombaire gauche participe, mais plus faiblement, à la contracture tonique et aux secousses; on voit aussi très nettement, à l'occasion des secousses, les muscles abdominaux, même à gauche, dessiner leur contraction.

Les secousses sont provoquées surtout par les déplacements du blessé, les pansements; elles sont tout à fait indépendantes de la respiration; elles persistent pendant le sommeil chloralique, mais affaiblies et plus rares. Elles peuvent disparaître pour quelques heures, quand le malade est dans le calme; le ventre est alors tout à fait souple, la contracture réduite à la région lombaire.

Ni trismus, ni raideur de la nuque; bras droit et cuisse droite souples : aucun trouble respiratoire; tachycardie régulièrement ascendante, le 6 juin à 90, le 12 à 120.

Température irrégulière, subfébrile, 37°5 à 38°5, attribuable à un état infectieux d'origine intestinale, avec état saburral très marqué et diarrhée.

Aucun trouble sphinctérien.

Nos cas sont en en somme du tétanos typique mais restreint à la région blessée pendant tout ou partie de son évolution. Mêmes symptômes fondamentaux : contracture tonique, permanente, d'intensité et d'étendue progressives, compliquée au bout de quelques jours de secousses spasmodiques provoquées par toutes les excitations locales. Même évolution : apparition, aggravation et extension des symptômes d'autant plus rapides que le cas sera plus grave; le maximum d'intensité et d'étendue est atteint en une ou deux semaines, puis l'affection décroît insensiblement pour être réduite à la fin comme au début à de la contracture de plus en plus atténuée pouvant persister encore des semaines et des mois, plus tenace que dans la forme classique.

Cette contracture continue est l'élément fondamental du tétanos le plus fruste. Dans tous nos cas elle s'est installée à

l'insu du blessé, tout à fait insidieuse, et c'est à l'occasion des pansements qui l'exagèrent qu'on la découvrira. Le membre est enraidi ordinairement dans l'attitude de contracture habituelle à la région (extension et équinisme au membre inférieur); la raideur, peu marquée au début, sera mise en évidence par les tentatives de réduction, par les mouvements volontaires, les attouchements, le chatouillement, en un mot par toute excitation locale. La palpation dénote des masses musculaires hypertoniques qui se durcissent en bloc à toute excitation; la contraction musculaire ainsi provoquée est anormalement étendue et prolongée, sensible au blessé.

Au bout de quelques jours, la contracture n'est que trop évidente : le membre blessé est rigide, d'un seul morceau, dur comme du bois, et la moindre excitation provoquerait une secousse spasmodique douloureuse de tout le membre.

Une raideur persistante dans un membre récemment blessé doit éveiller l'idée du tétanos.

Ici, plus de trismus initial pour fixer le diagnostic, mais la rigidité de la région blessée a la même valeur pathognomonique si l'examen nous y révèle les éléments essentiels du syndrome tétanique : contracture continue, à tendance envahissante, avec paroxysmes intermittents provoqués par les excitations locales.

Colles puis Follin (1) ont décrit des spasmes traumatiques localisés qui agitent les membres des fracturés, les moignons des amputés, spasmes parfois susceptibles de se généraliser et d'aboutir au tétanos. Colles avait même établi une sorte de progression entre les spasmes traumatiques et le tétanos. A cette époque, le tableau du tétanos était encore bien diffus et quelques-uns de ces faits seraient du tétanos à début local.

M. le professeur Broca vient d'en publier une observation dont il a bien voulu nous préciser les dates (2).

« Homme de vingt-sept ans, atteint d'une balle à Crouy, le 12 janvier, deuxième pansement le 15 à Vergy. Arrivé à Paris le 16. Sérum antitétanique aussitôt; fracture compliquée du fémur avec phlegmon gazeux. Débridement large, ablation des esquilles et drainage transosseux. Sujet

(1) *Dict. de Jaccoud*, article « Tétanos ».
(2) *Journal des Praticiens*, 10 avril 1915.

alcoolique invétéré : (il avouait six à sept litres de vin par jour) ; quoique la plaie allât bien, le blessé conserva une agitation extrême, et en particulier des spasmes musculaires tels que, malgré l'extension continue (3 kilog.), les fragments firent issue par les plaies hors de la cuisse devenue globuleuse, avec un raccourcissement d'environ 25 centimètres. Si bien que je me résolus à l'amputation. Et il persista une agitation que je mis sur le compte de l'excitation alcoolique, jusqu'à ce que, sept jours après l'amputation, vingt-deux jours après la blessure, je constatai, un matin, un très léger trismus ; le blessé succomba cinq jours plus tard, asphyxié, sans avoir eu de grandes crises convulsives dans les membres.

« Je me demande aujourd'hui si l'agitation initiale et les contractures de la cuisse n'étaient pas déjà fonction de l'infection tétanique ; ces spasmes douloureux prémonitoires sont classiquement décrits, mais je n'avais jamais eu l'occasion de les observer. »

En cas d'attitude fixe imprimée à un membre blessé par des lésions inflammatoires ou articulaires de voisinage, l'examen local donnera la raison d'être de cette attitude en même temps qu'il montrera l'absence des éléments essentiels du syndrome tétanique.

L'allure continue du syndrome le différenciera des états tétaniformes qu'on peut rencontrer dans les affections méningées ou cérébro-spinales, dans l'épilepsie jacksonienne.

L'hystérie n'est guère capable de produire ou d'accentuer une attitude douloureuse sur un membre blessé, encore moins une attitude de contracture résistant au sommeil chloralique et même à l'action inhibitrice du sulfate de magnésie intra-rachidien. Dans tous nos cas nous avons trouvé pendant la durée du tétanos le réflexe rotulien exagéré du côté sain et également du côté atteint vers la fin de l'affection, dès que la contracture fut assez atténuée pour permettre d'interroger les réflexes. Cette hyperréflectivité modérée, localisée à l'étage médullaire touché, est contemporaine du tétanos, elle s'atténue insensiblement comme lui.

La tétanie a quelques traits de ressemblance avec le tétanos localisé, mais les commémoratifs sont tout différents ; *la notion d'une blessure récente avec injection préventive de deux à quatre jours après, permettra d'affirmer à peu près sûrement un tétanos local.* Chacune des deux affections a son allure spéciale : la tétanie se montre le plus souvent par crises et n'a pas l'allure continue régulièrement croissante puis décroissante du tétanos ; dans la tétanie les contractures des extrémités sont le plus

souvent symétriques et prédominent aux membres supérieurs auxquels elles impriment des attitudes caractéristiques; dans l'une et l'autre affection la compression du paquet vasculo-nerveux du membre atteint aura naturellement un effet positif (signe de Trousseau commun); mais, en revanche, les excitations portées à distance sont inefficaces dans le tétanos localisé (signe du facial négatif).

Nos cas reproduisent trait pour trait le tableau du tétanos, provoqué dans les mêmes conditions expérimentales : introduction de la toxine par voie sous-cutanée ou intramusculaire. « Chez la plupart des animaux, la contracture débute par les muscles de la région injectée ; pendant un certain temps le membre qui a reçu la toxine est seul contracturé. Puis, la généralisation s'opère, commençant en général par le membre opposé pour remonter aux membres supérieurs et au tronc. On peut, avec une faible dose de toxine, limiter la contracture à un seul muscle; la guérison est alors la règle » (1).

Or, les mêmes auteurs ont aussi montré que les solipèdes et l'homme, animaux hypersensibles, font exception à cette loi générale du début des contractures par la région injectée : chez eux, certains muscles se contractent toujours les premiers bien qu'éloignés de la région injectée. Nos cas s'écartent donc de la forme spéciale aux animaux hypersensibles pour reproduire le tétanos expérimental ordinaire. Cette apparente contradiction est attribuable à l'injection préventive tardive (de 40 heures à 4 jours) notée dans tous nos cas. L'homme qui a reçu l'injection préventive réagit ensuite suivant la loi commune aux animaux injectés. « Le sérum injecté avant la toxine empêche la production du tétanos; injecté en même temps ou dans les premières heures qui suivent, il transforme un tétanos généralisé mortel en tétanos local curable; injecté à la fin de la période d'incubation ou après l'apparition des contractures, il est absolument inefficace » (2).

Comment l'injection un peu tardive de sérum préventif permet-elle un tétanos à début localisé? Est-ce en atténuant

(1) Courmont et Doyon, Le tétanos, in *Actualités médicales*.
(2) Roux et Vaillard, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1893.

la toxine, ou bien en modifiant la sensibilité du sujet au poison ? L'une ou l'autre hypothèse ne cadre guère avec ce que l'on sait de l'allure habituelle du tétanos retardé qui survient lorsque le pouvoir tétanigène de la blessure survit à l'épuisement de l'action immunisante du sérum préventif. Nous avons pu observer dans le service du Dr Malapert un cas bien net de ce tétanos retardé.

Un blessé injecté immédiatement fit au bout de cinq semaines un tétanos très atténué, il est vrai, mais débutant par trismus et affectant la forme commune. Caractérisé surtout par trismus, raideur de la nuque et du rachis, ce tétanos guérit complètement en trois semaines.

L'injection préventive de sérum antitétanique chez un blessé l'immunise contre le poison produit ultérieurement par la plaie, mais elle est sans action sur le poison produit et fixé préalablement; trop tardive, l'injection ne fera donc que réduire la dose de poison utilisée par le sujet; nos blessés injectés tardivement n'ont pu fixer et utiliser que la dose forcément restreinte de poison élaborée par leur plaie avant l'injection préventive.

L'injection préventive tardive ne borne pas son action à limiter la dose de poison utilisée, elle agit aussi en localisant cette utilisation, en la limitant aux points médullaires déjà touchés, aux centres de la région blessée, lesquels ont été imprégnés d'emblée par le poison transmis directement par leurs nerfs. Les points symétriques de la moelle et les étages médullaires voisins se trouvent protégés contre la diffusion du poison, et, à plus forte raison, les régions supérieures médullaires et bulbo-protubérantielles dans lesquelles réside surtout l'hypersensibilité spéciale de l'homme, régions dont la réaction plus précoce domine la symptomatologie du tétanos humain ordinaire.

Plus de symptômes initiaux bulbaires ou médullaires supérieurs, ni trismus ni raideur de la nuque; si quelque rare centre supérieur réagit ce ne sera que tardivement; seule la tachycardie s'est montrée assez constante, débutant quelques jours après la contracture avec l'allure habituelle aux symptômes tétaniques, d'abord régulièrement ascendante, ensuite

fixe, tenace. La polypnée fut beaucoup plus rare; pas de modifications spéciales de la température.

Le tétanos se bornera donc tout simplement, comme le tétanos expérimental ordinaire, à traduire l'exagération du pouvoir excito-moteur des centres médullaires de la région blessée, aussi ses symptômes y resteront-ils localisés le plus souvent, réduits en tout à de la raideur paroxystique unilatérale de la région blessée.

Le pronostic est naturellement moins sévère que dans le tétanos à trismus; nos cas se sont montrés d'autant moins graves qu'ils ont été plus tardifs et plus localisés. Cette gravité moindre était à prévoir d'après leur pathogénie; *dose utilisée réduite et champ d'action restreint du poison*, *action sur des centres moins élevés de l'axe médullaire*.

Le traitement nous semble devoir s'inspirer des formes à tétanos local, traitement localisé. Dans notre observation II, au traitement général habituel (chloral, morphine et phénol) nous avons dû ajouter l'injection inhibitrice de sulfate de magnésie dont nous avons eu soin de localiser l'action aux régions inférieures excitées de la moelle; l'effet sédatif a été merveilleux. Cependant notre cas comportait des symptômes graves : début des contractures avant le 5e jour, marche rapidement envahissante, polypnée, tachycardie.

Il faut donc être bien prévenu de l'existence de tétanos sans trismus ni réaction bulbaire, tétanos médullaire inférieur ordinairement unilatéral, réduit à des contractures et secousses localisées à la région blessée.

Ces cas semblent fréquents et demandent à être cherchés, au moins pour en préserver les autres blessés.

Tous nos cas se rapportent à des blessés injectés tardivement, d'où encore une fois la nécessité de l'injection préventive immédiate.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE
LA FLORE MICROBIENNE HABITUELLE DE LA BOUCHE NORMALE
(NOUVEAU-NÉS, ENFANTS, ADULTES)

par Mme Z. A. BRAÏLOVSKY-LOUNKEVITCH
Doctoresse en médecine.

(Travail du Laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

FLORE MICROBIENNE HABITUELLE DE LA BOUCHE

Nous possédons déjà de nombreux travaux sur la flore microbienne de la bouche. Campo, Bonnaire et Keim, Lewkowicz et Jeannin ont étudié spécialement la flore de la bouche des nourrissons; Vignal, Galippe, Biondi, Netter, Sanarelli, Podbielsky, Miller, Widal et Bezançon, Grimbert et Choquet, Bezançon et Griffon, la bouche des adultes. Nous avons pensé qu'il y avait intérêt à reprendre ces recherches, non seulement pour tâcher de vérifier et compléter les faits particuliers déjà acquis, mais pour en dégager la signification générale.

Les études sur la flore intestinale, qui se sont multipliées surtout sous l'impulsion de Metchnikoff, ont ravivé l'intérêt des études sur la bouche, vestibule du tube digestif; il est donc tout naturel, en dressant le tableau de la flore buccale, de le comparer à celui de la flore intestinale. De plus, au lieu de nous borner à l'étude de la bouche à un âge déterminé de la vie, soit dans les premiers jours, soit dans la seconde enfance, nous nous sommes préoccupée d'en tracer l'évolution au cours du développement de l'individu. Enfin, la bouche n'étant pas un terrain uniforme, où les conditions sont les mêmes sur tous les points, nous avons cherché s'il n'y avait pas quelques différences entre les diverses régions, joues, langue, gencives;

notre curiosité étant ici éveillée par l'assertion de Schottelius, qu'il y a une analogie entre les différents frottis, provenant de langues de personnes différentes.

Il suffit de quelques mots pour indiquer la technique, qui est celle de toutes les études de ce genre. Le matériel était prélevé soit avec de petits tampons d'ouate, stérilisés dans les tubes qui servaient à les transporter, soit avec la spatule de platine, dont on ne peut se passer pour prélever le matériel sur les gencives, dans les interstices des dents.

Les isolements étaient faits dans des séries de tubes de Liborius-Veillon; ils étaient faits aussi après enrichissement préalable du matériel par passages dans des milieux électifs, tels que bouillon acide, bouillon d'Achalme (additionné d'un cube de blanc d'œuf cuit), amidon, etc. Nous avons utilisé aussi les milieux spéciaux de Mühlens et de Noguchi. Les microbes étaient définis non seulement par leur forme et les caractères des colonies et des cultures, mais, autant que possible, par les caractères biochimiques.

A. — Nourrissons.

Grâce à l'obligeance de M. le Dr Brindeau, nous avons pu, à la clinique Tarnier, examiner les mêmes enfants dès la naissance, après quelques heures, puis après quelques jours, et suivre pas à pas le peuplement de leur bouche. Ces prélèvements ont été complétés par des prélèvements faits en ville sur des enfants nés et élevés dans le milieu familial. On comprend que les conditions puissent différer de la famille à un grand établissement hospitalier, où la meilleure tenue possible n'empêche pas les allées et venues du personnel et des visiteurs et ne peut supprimer, pour ainsi dire, les causes flottantes de contamination.

Au moment de la naissance, le liquide buccal est absolument stérile, ainsi que l'ont constaté Bonnaire et Keim, Podbielsky et Jeannin après leurs prélèvements faits avec toutes les précautions nécessaires.

D'après Jeannin, la cavité buccale commence à se peupler vers la 6e heure; vers la 10e heure, on trouve déjà des microorganismes dans les examens directs du liquide de la bouche,

comme dans les milieux de cultures ensemencés : c'est ce que nous avons observé à notre tour.

Ce peuplement est donc très rapide ; il est intéressant de le comparer avec celui de l'intestin, où, d'après Escherich et Tissier, on ne commence à trouver des micro-organismes que de la 10e à la 20e heure. Ces micro-organismes sont d'origine buccale, puisqu'ils sont accompagnés d'une abondante débâcle de cellules plates analogues à celles de la bouche (Tissier).

Dans la bouche, Jeannin a trouvé comme première espèce du *Staphylocoque doré,* à la 9e heure du *Coli* et du *Parvulus* ; à la 12e heure en plus de ces espèces le *Streptocoque anaérobie.*

Un de nos cas a donné, vers la 10e heure, *Streptocoque pyogène*, *Entérocoque*, *Streptocoque salivaire*, *Micrococcus candicans*, *Sarcine blanche*, *Bacterium acidi lactici* et *B. subtilis;* un autre cas, à la 16e heure, le *Streptocoque pyogène*, le *Pneumocoque*, le *Streptocoque salivaire*, le *Micrococcus candicans*, une *Sarcine blanche*, le *Bacterium acidi lactici.* Notons qu'au même moment l'intestin ne renferme que du *Staphylocoque blanc* et du *Bact. coli* (Tissier).

Après la première tétée, dans le courant du 2e jour, le nombre des bactéries augmente, non seulement sur les préparations directes, mais aussi dans les ensemencements. Il se fait donc, dans la bouche comme dans l'intestin, une *infection croissante.*

A cette phase, les frottis ne présentent encore que quelques cellules plates autour desquelles et sur lesquelles se trouvent surtout des cocci ronds ou ovalaires, grands et petits, isolés ou groupés par paires ; à côté d'eux, quelques rares petits bacilles isolés ou groupés par paires, la plupart prenant le Gram.

Quant aux cultures, elles donnent, en plus des espèces précédemment citées, le *Bact. coli commune*, *Bacterium lactis aerogenes*, *Proteus*, *Staphylocoque blanc* et *Cocobacilles* prenant le Gram (*Coccobacillus gazogenes liquefaciens*), et dans certains cas du *Pneumocoque*, du *Streptococcus penetrans*, du *Parvulus* et le *B. bifidus.*

Vers le 6e jour, la flore se développant, apparaissent, en plus des espèces susnommées, le *Streptococcus tenuis*, *Staphylococcus citreus* ; une *Levure*, *Mesentericus vulgatus* et une *Bactérie filamenteuse* et bizarre ayant les caractères du *Mesentericus.*

Tel autre cas ne nous a donné que vers le 8e jour le *Streptococcus compactus*, le *Staphylococcus aureus* et *Bact. coli commune*.

Chez les nouveau-nés de la ville, mêmes espèces qu'à la clinique d'accouchement et en nombre à peu près égal, avec cette différence importante qu'en ville nous n'avons pas isolé le *Pneumocoque* ni le *Staphylocoque pyogène*.

On n'observe donc pas dans la bouche ce changement d'aspect si brusque et si typique qui s'accomplit dans l'intestin dans le courant du 2e ou du 4e jour (phase de transformation de la flore, Tissier), où toutes les espèces infectantes sont pour ainsi dire éliminées pour laisser la place au seul *B. bifidus*. Dans la bouche au contraire, le polymorphisme reste de règle. Dans les examens microscopiques comme dans les cultures, l'augmentation des espèces microbiennes, en quantité et en variété, persiste avec la même allure continue jusqu'au 11e jour au moins.

Cette différence est le fait du milieu; dans la bouche il y a aération et mouvement continuel, grâce surtout aux mouvements de la langue, au passage des liquides; dans l'intestin il y a stagnation à l'abri de l'atmosphère, ce qui explique la prédominance rapide et brusque d'un anaérobie strict, ferment actif du sucre.

D'où viennent ces bactéries qui peuplent la bouche? Certaines viennent sûrement de poussières environnantes, c'est le cas des *Sarcines*, du *Coccus de l'air*, du *Micrococcus candicans*, du *B. subtilis*, du *B. mesentericus*; d'autres, communes aux enfants de la ville et aux nouveau-nés de cliniques d'accouchement : *Streptococcus salivaris*, *Staphylocoque blanc*, *Entérocoque*, *Bact. lactis aerogenes*, *Bact. coli*, *B. bifidus* viennent certainement de la mère ou de la nourrice; les autres, enfin, pathogènes atténuées plus ou moins : *Pneumocoque*, *Streptocoque pyogène*, *Proteus*, *Streptocoque* ne prenant pas le Gram (Cottet et Tissier) sont fournis par le milieu hospitalier, puisqu'à la ville, dans quelques cas que nous avons pu suivre, nous ne les avons pas trouvées. Cette différence mérite d'être soulignée. Il ne peut être sans inconvénient pour un organisme jeune de rester ainsi « porteur de microbes » qui, sous diverses influences, sont susceptibles de déployer leur propre virulence.

Le *B. lactique* doit avoir également une origine hospitalière, étant donnée la quantité de lait de vache manipulé dans ces grands établissements de puériculture.

Chez les nourrissons plus âgés, vers la fin de la 2e semaine, la flore reste variable : au microscope, dans les *frottis*, on voit, autour des cellules et sur les cellules épithéliales desquamées, en quantité plus ou moins grande, des diplocoques, quelques bâtonnets se colorant par le Gram et des levures.

Dans *les cultures*, les espèces apparaissent plus nombreuses que sur les préparations directes. Vers le 10e jour un cas nous a donné le *Streptocoque salivaire*, le *Streptocoque pyogène*, le *Pneumocoque*, le *Staphylocoque blanc*, le *Cocobacillus gazogenes liquefaciens*, une *Levure*, le *Mesentericus fuscus*, le *Mesentericus vulgatus* et l'*Acidophile de Moro* ; dans un autre cas, vers le 11e jour, en plus des microbes énumérés, l'*Entérocoque*, *Streptococcus penetrans*, *Streptococcus* Gram négatif (Cottet et Tissier), *Micrococcus roseus* et *B. acidi lactici.*

En somme les anaérobies stricts sont rares dans les bouches normales des nourrissons, comme l'ont vu d'ailleurs tous les observateurs.

C'est vers le 12° jour qu'une espèce, le *Streptocoque salivaire*, prend une place importante. Il est constant dans les examens que nous avons pratiqués au cours de la 1re année (Jeannin est arrivé au même résultat), tandis que les autres bactéries, comme les bactéries de l'air (*Sarcine*, *Mesentericus*, *Candicans*, *Levures*) ont tendance à disparaître. Celles qui sont apportées par le milieu variable — le *Pneumocoque*, le *Streptocoque pyogène* — restent variables. Celles, enfin, que nous avons considérées comme d'origine maternelle semblent plus constantes. Aucune, cependant, en dehors du *Streptocoque de la salive*, ne mérite le nom d'espèce *constante.* Les unes se voient plus fréquemment que les autres, comme le *Staphylocoque blanc*, le *Pneumocoque*, le *Streptocoque pyogène*, les variétés du *Salivaris* (*Streptococcus tenuis*, *Streptococcus penetrans*, *Streptococcus aerophilus*, *Streptococcus compactus*), le *B. coli*, *B. bifidus*, le *Parvulus*; mais elles ne se trouvent pas uniformément dans tous les isolements que nous avons faits.

On ne peut donc dire qu'il existe dans la bouche du nour-

risson, comme c'est le cas pour son intestin, un type de flore normale, nettement prédominante. Une seule espèce est constante après la première semaine : le *Streptocoque salivaire*. Nous ne pouvons donc pas confirmer cette conclusion de Jeannin, qu'il existe chez les nourrissons une « flore microbienne normale » de la bouche.

B. — Enfants agés de 1 an a 14 ans.

Après la première enfance, un changement notable s'introduit avec la dentition.

Chez les nourrissons, le tableau microbien reste presque le même, qu'on fasse les prélèvements sur les gencives, sur la langue ou sur les joues. Il n'en est plus ainsi dès qu'apparaissent les premières dents, dès que les replis de la gencive forment des anfractuosités, où des débris alimentaires peuvent séjourner et nourrir et abriter des anaérobies capables de les attaquer.

Sur les préparations du liquide buccal d'*enfant de 4 ans*, par exemple, on voit ce qui suit :

Sur la *joue* et la *voûte palatine* l'aspect des frottis est sensiblement le même et ressemble beaucoup à celui de la bouche de nouveau-né : toujours les cellules plates desquamées, un grand nombre de cocci ronds ou ovalaires, petits et grands, disposés par paires, quelques rares bâtonnets prenant ou ne prenant pas le Gram.

Sur la *langue* les mêmes diplocoques prédominent, mais il s'y ajoute les bâtonnets courts prenant le Gram, quelques bâtonnets plus petits ne gardant pas le Gram, quelques filaments plus ou moins longs (Leptothrix), quelques rares spirochètes et vibrions.

Sur la *gencive*, autre aspect : les cellules épithéliales n'y sont plus très nettes, elles sont déjà en voie de dégénérescence et de désagrégation; rares deviennent les diplocoques, qui prédominaient sur la langue et qui existaient exclusivement sur la joue; il y a quelques rares amas plus ou moins grands de cocci prenant ou non le Gram, les filaments du Leptothrix longs et épais gardant le Gram et dont le nombre est très grand dans le champ du microscope; en plus des bâtonnets longs et

courts prenant ou non le Gram, d'assez nombreux bâtonnets en forme de massue, beaucoup de bâtonnets très minces avec des bouts effilés Gram négatifs et, enfin, un nombre de spirochètes plus grand que sur la langue.

Les *isolements* donnent alors des aérobies — le *Streptocoque de la salive*, *Streptococcus tenuis*, *Micrococcus candicans*, *Streptococcus aerophilus*, *Streptocoque pyogène*, *Pneumocoque*, *Bact. coli commune* et comme anaérobies stricts : le *Parvulus*, *B. bifidus*, *Leptothrix buccalis* et *Spirillum sputigenum*.

Chez l'*enfant de 10 ans*, les préparations directes sont à peu près les mêmes sur la joue et le voile du palais.

Sur la *langue*, les mêmes diplocoques prédominent; de gros et longs bâtonnets Gram positifs, quelques filaments du Leptothrix, des spirilles en assez grand nombre, des streptobacilles prenant le Gram, quelques amas de cocci grands et petits, quelques minces et petits bâtonnets Gram négatifs et, enfin, quelques vibrions ne prenant pas le Gram.

Sur la *gencive*, les filaments enchevêtrés du *Leptothrix* prédominent; beaucoup de bâtonnets minces avec des bouts effilés ne gardant pas le Gram, quelques rares diplocoques, de place en place des formes vibrioniennes et des spirilles plus nombreux que sur la langue.

Les *ensemencements* donnent : le *Streptococcus salivaris*, *Streptococcus aerophilus*, *Streptococcus tenuis*, *Entérocoque*, *Sarcina lutea*, *Pseudo-diphtérique* à formes d'involution géantes, *B. lactis aerogenes* et comme anaérobies — *Micrococcus fœtidus anaerobius* (Veillon), *Bacillus anaerobius gracilis* et *Leptothrix buccalis*.

Chez l'*enfant de 14 ans*, même aspect de la joue et de la voûte palatine.

Sur la *langue*, les diplococcus prédominent, les filaments de Leptothrix sont peu abondants; les spirilles sont rares.

Sur la *gencive*, c'est un pullulement de filaments de Leptothrix souvent enchevêtrés, de bâtonnets minces aux bouts effilés Gram négatifs; les spirilles sont assez nombreux, les formes vibrioniennes rares. Une seule fois, un prélèvement d'un point de la face externe de la gencive a donné une quantité

très grande de petits vibrions qui, par place, se présentaient comme une culture pure.

Les *ensemencements* nous ont donné les aérobies : *Streptococcus salivaris*, *Streptococcus aerophilus*, *Streptococcus compactus*, *Staphylocoque blanc*, *Sarcina candida*, *Streptocoque à chaînettes longues* non pathogène, *Proteus vulgaris*, *Pseudo-diphtérique* et les anaérobies : *Parvulus*, *Spirochète mince*, *Spirillum nigrum* et *Leptothrix*,

La seconde enfance possède donc ce qui ne se trouvait pas chez le nourrisson, des espèces constantes; au premier plan, le *Streptocoque salivaire* et tous les autres streptocoques qui nous semblent en dériver et qui n'en sont que des variétés (Streptococcus *aerophilus*, Streptococcus *tenuis*, Streptococcus *compactus*), comme l'ont, du reste, déjà fait remarquer G. Lemoine, et Widal avec Bezançon. Cette espèce, nettement prédominante, forme sur les frottis, avec son aspect typique de diplocoques ou de courtes chaînettes à 3-4 grains au plus, l'immense majorité. Elle domine de même dans les cultures, puisqu'elle forme à elle seule 80 p. 100 des colonies.

Ce n'est que dans les examens des débris intradentaires et des replis des gencives que ce coccus est rejeté au second plan; à côté de lui apparaissent de grands filaments de *Leptothrix*, filaments rigides pour la plupart, prenant la coloration de Gram. Ces filaments forment, comme nous l'avons déjà dit, un véritable feutrage au milieu duquel se trouvent en plus ou moins grande quantité les *spirochètes*, les *petites spirilles*, les *vibrions*, etc.

Il existe donc, chez les enfants qui ont déjà des dents, une *flore constante*, composée surtout par le *Streptocoque salivaire* et par les anaérobies : *Leptothrix*, *Spirochètes*, *Spirilles*, *Bac. anaerobius gracilis*, *Vibrions* et *Parvulus*. Mais, fait important, si qualitativement leur présence est constante, leur quantité ne l'est pas. Ils pullulent surtout chez les enfants mal soignés.

Cette flore constante des enfants ayant fait leurs dents, et que nous retrouverons ensuite chez tous les sujets et à toutes les époques de la vie, mérite le nom de flore *habituelle* ou de flore *fondamentale* de la bouche.

C. — Adulte normal.

La flore habituelle une fois établie, on peut en étudier la répartition, et voir si, comme l'a dit Schottelius, il y a identité de flore pour la langue des différents individus.

Sur la *joue* et sur la *voûte palatine*, autour des cellules desquamées se présentent toujours les cocci grands ou petits, plus souvent ovalaires, disposés toujours en diplo; dans quelques cas seulement, et en examinant soigneusement toute l'étendue de la préparation, nous avons pu voir quelques bâtonnets, quelques filaments de Leptothrix et de rares spirilles.

Sur la *langue* de tous les adultes examinés, les mêmes diplocoques existent en grand nombre; de rares cocci en amas ou isolés, des bâtonnets très courts ou longs, le plus souvent minces, des spirochètes en quantité variable, dans quelques cas des filaments de Leptothrix; dans peu de cas seulement, des formes vibrioniennes.

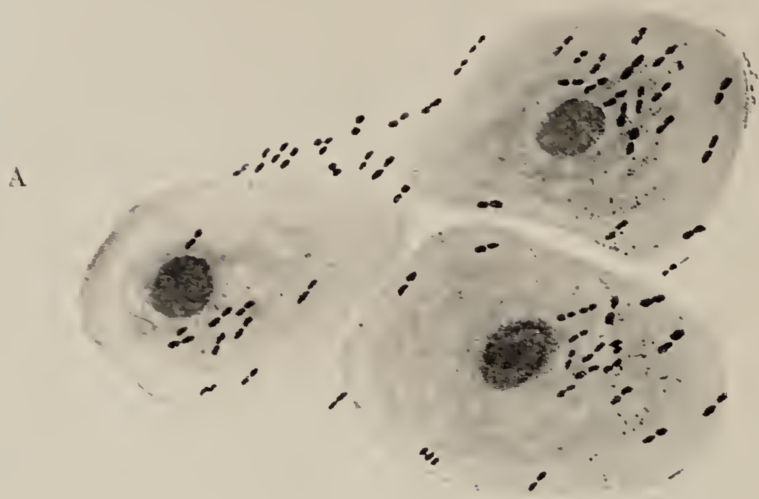
Sur les *gencives*, peu de cocci; les autres microbes sont plus ou moins nombreux suivant l'individu : dans quelques bouches, des bâtonnets à bouts effilés en très grand nombre Gram négatifs; dans quelques autres, ce sont les filaments de Leptothrix qui prédominent; dans d'autres, ce sont les spirochètes.

En comparant les résultats obtenus en étudiant les frottis d'enfants et d'adultes, on aperçoit l'analogie entre les régions correspondantes des bouches d'individus différents en même temps que la dissemblance entre les différentes régions d'une même bouche.

Toujours, la *joue*, le *palais*, les *amygdales* saines portent des diplocoques; les autres microbes y sont visiblement apportés par la langue, et cela surtout dans les bouches malpropres. La *langue* est le terrain de prédilection des anaérobies facultatifs ou stricts, qui y trouvent des conditions plus favorables que sur la surface lisse des joues et du voile du palais.

Entre le dos et le bout de la langue, peu de différence, si ce n'est, peut-être, une plus grande abondance de spirochètes et de leptothrix au bout, qui est constamment en contact avec les gencives. Quantitativement, le dos de la langue est plus peuplé, ce qui s'explique assez par l'existence des villosités.

PRÉLÈVEMENTS SUR LA MUQUEUSE D'UNE BOUCHE NORMALE (ADULTE)



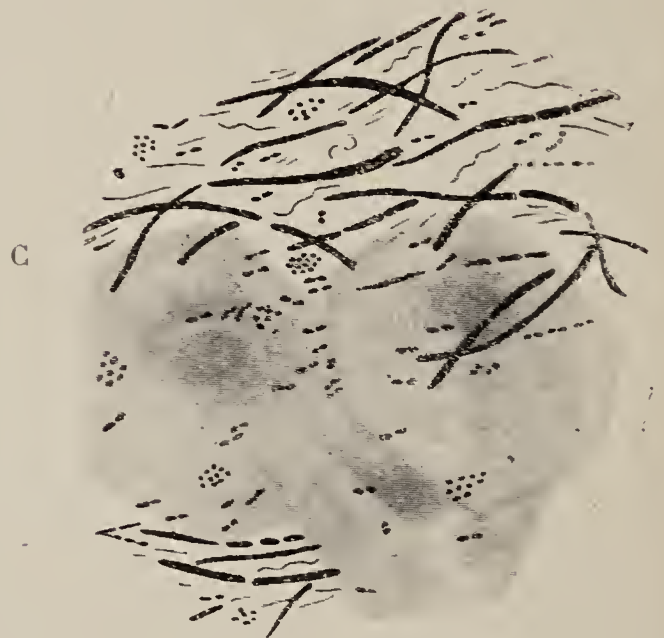
A. — *Joue.*

Cellules épithéliales plates desquamées et diplocoques prenant le Gram. Gr. = 1000 d.



B. — *Langue.*

Cellules desquamées, diplocoques prenant le Gram, amas de cocci ronds, Gram positifs, chaînettes courtes de cocci disposés par paires, quelques courts bâtonnets à bouts rectangulaires gardant le Gram, quelques bâtonnets minces et courts, quelques autres longs et minces, à bouts effilés, Gram négatifs ; quelques rares spirilles, vibrions et filaments de *Leptothrix*, Gram positifs. Gr. = 1000 d.



C. — *Gencive.*

Rares diplocoques, Gram positifs ; quelques amas de cocci ronds ne gardant pas le Gram ; bâtonnets gros et courts, Gram positifs ; petits et longs bâtonnets, Gram négatifs ; quelques vibrions ne gardant pas le Gram ; beaucoup de filaments de *Leptothrix* entre-croisés et enfin assez nombreux spirilles. Gr. = 1000 d.

Sur les *gencives*, grâce aux anfractuosités, au séjour des débris alimentaires et à l'aération moindre, on rencontre presque exclusivement des anaérobies stricts. Comme nous l'avons vu, les gencives de toutes les bouches se ressemblent; cependant on note de temps en temps une certaine individualité : ainsi, sur

quelques-unes prédominent les filaments des leptothrix enchevêtrés, entre-croisés, formant une véritable touffe; sur d'autres ce sont les spirochètes; ailleurs des fusiformes, et sur d'autres, enfin, des formes vibrioniennes petites ou grandes.

Dans les bouches à pyorrhée, mais sans carie dentaire manifeste, on peut voir tous ces microbes associés : d'une seule pyorrhée nous avons pu isoler les micro-organismes que nous venons de citer pour les différentes bouches saines : *Leptothrix buccalis*, *Spirochæta buccalis*, *Vibrions petits* et *grands* et *Spirochète mince*.

Les *cultures* donnent le *Streptocoque de la salive* et les *Leptothrix* dans tous les cas examinés; le *Micrococcus candicans*, *Streptococcus agregatus*, *Spirochète mince* et le *Vibrion*, 70 p. 100 en moyenne; le *Streptococcus penetrans*, *Entérocoque*, *Parvulus*, 56 p. 100; le *Streptocoque pyogène*, *Bacille pseudo-diphtérique*, *Streptococcus aerophilus*, *Acidophile Moro*, *Bacillus anaerobius gracilis*, *Pneumocoque* et *Staphylocoque*, 42 p. 100; le *Streptococcus tenuis*, *Staphylococcus citreus*, la *Levure*, *Sarcina lutea*, *Diplococcus griseus non liquefaciens*, *Bact. coli communis*, 28 p. 100; le *Streptococcus compactus*, *Streptocoque* Gram nég., *Streptococcus intestinalis*, *Bacillus acidi lactici*, *Mesentericus vulgatus*, *B. subtilis*, *B. perfringens*, *Bacillus anaerobius minutus*, *Bacillus capillosus*, *B. fusiforme* et *Bacillus fluorescens*, 14 p. 100.

Notons que, chez les nouveau-nés, on trouve plus d'espèces microbiennes dans les cultures que sur les préparations directes; c'est le contraire chez les adultes, où les frottis paraissent présenter plus d'espèces qu'on n'en isole en culture : le dernier cas se réalise avec toutes les flores abondantes; les cultures donnent relativement plus avec une flore pauvre. Cependant, en répétant les ensemencements, on arrive à isoler toutes les espèces que l'on voit sur les lames.

Ce sont les spirochètes qui sont le plus difficile à cultiver, malgré les services que rendent les milieux spéciaux de Mühlens, Repaci et Noguchi. Les *Spirochètes* souffrent sans doute de la concurrence des autres microbes. Car il nous a suffi d'examiner une pyorrhée avec nombre très grand de spirochètes — si grand qu'au premier coup d'œil jeté sur le frottis on aurait pu croire à une culture presque pure — pour les

pouvoir isoler sur les milieux électifs sous forme de colonies séparées et en cultures pures.

On retrouve en somme chez l'adulte la même flore *habituelle* que chez les enfants après la dentition, variable aussi suivant les habitudes de propreté et d'hygiène.

La flore fondamentale est constituée donc par *le Streptocoque salivaire*, espèce prédominante, et par les anaérobies suivants : *Leptothrix*, *Spirilles*, *Vibrions*, *B. anaerobius gracilis* ou *B. anaerobius minutus* et *Parvulus*. Autour d'eux se groupent les autres espèces.

Les microbes pathogènes, tels que *Streptocoque pyogène*, *Pneumocoque*, *Fusiforme*, sont rares à l'état normal.

Netter a trouvé le *Streptocoque pyogène*, chez 5 p. 100 de sujets sains. Anitzkoff et Platonoff chez 40 p. 100, Besançon et Griffon, Widal et Bezançon ont trouvé qu'il était l'hôte constant de la bouche normale. Nous l'avons vu dans 42 p. 100 de nos bouches normales et jamais ce streptocoque pyogène n'a entraîné la mort chez nos animaux d'expérience, mais seulement des abcès plus ou moins gros et passagers.

Dans un cas d'*angine aiguë*, nous avons isolé un *Streptocoque pyogène*, qui a tué la souris en vingt heures, et dans le frottis ce streptocoque était en chaînettes très longues, occupant le champ du microscope, ce qui n'arrive jamais dans la bouche normale, où il est en diplo ou en très courtes chaînettes de 3-4 grains au plus.

Netter a constaté le *pneumocoque* dans 20 p. 100 des cas examinés, Gamaleïa l'a trouvé plus souvent dans les bouches saines, Lewkowicz, d'une façon constante. Nous l'avons trouvé dans 52 p. 100 des cas. Dans les bouches normales il n'est pas très virulent; dans quelques cas cependant, il a déterminé des escarres et dans quelques autres la mort tardive des animaux inoculés.

En étudiant un second cas d'*angine aiguë non diphtérique*, nous avons isolé un *pneumocoque* qui a tué la souris en vingt-deux heures. Dans cette bouche nous avons pu isoler aussi le *Streptocoque pyogène*, qui a produit un abcès chez la souris, et le *Streptobacille* à chaînettes très longues, qui a donné aux deux souris des abcès et un malaise général.

Quant au *Bacille fusiforme*, les avis sont partagés sur son

caractère pathogène : les uns (Vincent, Lewkowicz et Repaci) le considèrent comme nuisible, pouvant même donner de l'intoxication ; les autres, au contraire (Hartmann, Mühlens, Ellermann, Rodella et Veillon), le considèrent comme peu ou pas pathogène pour les animaux de laboratoire ; ils considèrent même le *fusiforme* comme hôte habituel de la bouche saine. Nous l'avons trouvé dans 14 p. 100 des bouches normales et une fois dans une *stomatite chronique*. Le *fusiforme*, isolé de cette dernière et inoculé à la souris, donna un abcès et un malaise général qui dura quelques jours sans entraîner la mort. Ce même *fusiforme*, inoculé dans les gencives du singe, a déterminé une légère gingivite, qui a duré trois semaines. Nous n'avons pu, en ensemençant cette gingivite, isoler le microbe.

Les pseudo-diphtériques, isolés dans près de 50 p. 100 des cas, ne se sont jamais montrés pathogènes.

ROLE PHYSIOLOGIQUE DE LA FLORE BUCCALE

Quel est le rôle de tous ces microbes? Peuvent-ils servir à la nutrition de l'organisme ou ne sont-ils que des parasites sans utilité?

La salive des nourrissons, des jeunes enfants, comme des adultes, ensemencée en masse dans le lait, le coagule, quelquefois avec rétraction du caillot et très rarement avec liquéfaction consécutive. La même salive, ensemencée dans l'empois d'amidon, en quantité suffisamment petite pour éliminer complètement le rôle de la ptyaline, nous a donné dans 60 p. 100 des cas une attaque de l'amidon avec production de sucre. Elle attaque de même tous les bouillons sucrés en donnant une acidité évaluée en moyenne à 5,88 p. 1.000 (de SO^4H^2). Ensemencée en masse dans les milieux contenant du blanc d'œuf, elle produit une odeur de putréfaction très nette et une désagrégation plus ou moins forte du cube de blanc d'œuf, mais n'allant jamais jusqu'à liquéfaction complète. Ces ensemencements contiennent de l'indol dans 40 p. 100 des cas.

Ainsi cette flore contient des espèces qui fermentent le sucre, d'autres qui fermentent l'amidon et enfin des protéolytiques. Elle est donc capable de détruire à la fois les matières hydrocarbonées et les matières albuminoïdes. Miller, Jeannin et

Rodella sont arrivés dans leurs recherches aux mêmes conclusions. La plus grande partie de ces microbes et principalement les facultatifs du type streptocoque attaquent les sucres.

Le *Salivaire* donne une acidité de 3,92 pour 1.000 (de H^2SO^4), de sorte qu'il serait donc capable d'arrêter la putréfaction dans un milieu sucré.

Le *Mesentericus* et le *Subtilis*, hôtes assez fréquents de la bouche, jouent un grand rôle dans la fermentation de l'amidon. Ce sont eux aussi qui opèrent l'attaque des matières albuminoïdes (destruction incomplète, il est vrai). Quant aux grands anaérobies protéolytiques (*Putrificus*, *Sporogenes* et *Perfringens*), nous ne les avons vus que dans les cas pathologiques, et seulement une seule fois dans la bouche normale d'un adulte. Miller et Rodella les ont signalés dans les bouches normales, mais mal tenues et chez les sujets porteurs de caries dentaires, cas que nous avons soigneusement écartés de notre description de la bouche normale.

La salive serait-elle capable par elle-même d'empêcher le pullulement de ces microbes protéolytiques dans la bouche normale ?

Il n'en est rien d'après nos expériences, où de la salive *stérile* (filtrée) ou *non stérile* était ajoutée à des tubes de bouillon d'*Achalme* et de l'eau peptonée (2 parties de salive pour 1 de bouillon), ensemencés ensuite avec le B. *proteus*, le B. *putrificus* ou le *Bact. coli*.

En comparant avec les tubes témoins on voit que la salive *stérile* ne diminue point l'action protéolytique du *Putrificus* et du *B. proteus vulgaris*; elle n'atténue pas la formation d'indol par le *Bact. coli*. La salive *non stérile*, prise directement de la bouche, diminue seulement un peu l'action protéolytique du *Putrificus* et augmente à peine la destruction du blanc d'œuf par le *Proteus vulgaris*. Quant à l'action de la salive *non stérile* sur le *Bact. coli*, dans quelques cas la quantité de l'indol était légèrement plus grande, dans d'autres plus petite que dans les tubes à essais contenant le *Bact. coli* seul.

En somme l'action propre de la salive sur la vitalité de ces microbes est peu appréciable, et l'on peut, avec Hugenschmidt, nier complètement son action germicide sur les microbes de la bouche.

A défaut des grands protéolytiques la bouche possède quantité de microbes *peptolytiques*. Les *Leptothrix* semblent localiser leur action sur les albuminoïdes qui ont subi un début d'hydratation. Les *vibrions*, les *spirilles* et *spirochètes* semblent avoir la même action. Ce sont eux probablement qui, par la destruction des produits peptonisés, donnent l'odeur particulière des bouches mal tenues.

Voici un fait qui attire l'attention. Quand la bouche est bien tenue, la salive a une réaction neutre ou légèrement alcaline et la flore dominante est une flore aérobie ou anaérobie facultative. Quand la bouche est mal tenue, la salive a une réaction fortement alcaline, la flore est surtout anaérobie et dans ces cas il y a une putréfaction évidente. Cette putréfaction est certainement nuisible. Il est bien probable que c'est elle qui favorisera l'attaque ultérieure de la dentine et qui, directement ou indirectement, causera la carie dentaire.

Bien que les conditions physiques et biologiques de la cavité buccale soient défavorables à la pullulation des microbes, et bien que la flore microbienne particulière à cette région contienne des espèces susceptibles d'arrêter la putréfaction et le développement des microbes pathogènes, on ne peut pas dire que la flore de la bouche soit utile à l'organisme, elle est plutôt nuisible : par ses microbes putréfiants, qui favorisent la carie dentaire ; par ses pathogènes, comme les *Pneumocoques*, *Streptocoques pyogènes*, etc., qui sont comme une réserve dangereuse pour l'organisme.

Remarquons, en terminant, *l'individualité de la « flore buccale habituelle »* : localisée à la bouche, elle reste dans la bouche, on ne la rencontre en dehors de cette cavité que très rarement. On ne la retrouve pas dans l'intestin où elle est pourtant sans cesse entraînée. C'est que, très probablement, ces microbes habituels de la flore fondamentale de la bouche (*Streptocoque salivaire et ses variétés*, *Leptothrix*, *Spirochètes*, etc.) ne résistent pas à l'action de la sécrétion gastro-intestinale (Vignal, Straus et Würtz et autres).

CONCLUSIONS

Chez l'*enfant*, aussitôt après la naissance et dans les premières heures de la vie, la bouche est stérile. La bouche se peuple très rapidement quelques heures après la naissance. L'espèce prédominante est le *Streptocoque salivaire et ses variétés*, qui sur les frottis se présentent toujours sous forme de diplocoques disséminés. Les autres microbes qui s'y ajoutent ne sont que des hôtes accidentels. La « *flore habituelle* » est donc une flore aérobie ou anaérobie facultative, ne comprenant que très rarement un anaérobie strict, le *Parvulus*.

Dès que *les dents apparaissent*, la flore change de caractère et à la flore habituelle du nouveau-né s'ajoutent les anaérobies stricts : *Leptothrix buccalis*, *Spirochètes*, *Spirilles*, *Vibrions*, *Parvulus*, *Bac. anaerobius gracilis*, etc.

Il y a *identité* entre la flore habituelle chez les enfants ayant fait leurs dents et celle des adultes normaux.

La flore *varie* suivant les régions de la bouche et il y a une *ressemblance* entre les régions correspondantes de différentes bouches.

Il n'y a pas de microbes *anaérobies vrais protéolytiques* dans les bouches normales tenues en bon état d'hygiène.

On rencontre des espèces *pathogènes*, dont la virulence est atténuée dans la bouche normale.

La propreté de la bouche, dans le sens le plus large du mot (hygiénique et bactériologique), est très importante, car elle écarte les conditions qui favoriseraient la pullulation des microbes pathogènes et l'installation de la carie dentaire.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à M. le professeur Metchnikoff, qui a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et m'encourager dans cette étude de la flore buccale, et mes vifs remerciements à M. le Dr Tissier qui m'a guidé dans les recherches des faits et l'interprétation des résultats; à M. le Dr Burnet qui m'a aidé dans le détail de ma recherche, ainsi que M. le Dr Wollmann pour l'identification des espèces microbiennes.

DESCRIPTION DES MICROBES

Nous ne donnerons que la description de quelques espèces, que nous n'avons pu identifier d'une façon certaine.

1. *Coccobacillus gazogenes liquefaciens* (espèce nouvelle ?). — Rencontré à plusieurs reprises chez le même nouveau-né. Coccobacille isolé ou groupé par paires. Sa longueur reste toujours celle d'un *B. acidi lactici.* Se colore



Fig. 1. — *Streptobacille.* Culture en gélose sucrée de 4 jours. Gr. = 1800 d.

par les colorants basiques ordinaires et prend le Gram. Très mobile : mouvements en tourniquet ou en tire-bouchon, très rapides.

Sa vitalité peut persister un mois et plus dans les milieux sucrés. Anaérobie facultatif; pousse à la température de la chambre, mieux à 37 degrés. En gélose sucrée profonde, pousse en vingt-quatre heures. Les colonies fines, puis opaques, très régulières, rondes ou lenticulaires, peuvent atteindre 1 ou 2 millimètres de diamètre. Elles donnent des gaz abondants déjà en vingt-quatre heures, fragmentant rapidement le milieu avec exsudation de liquide louche, ayant une légère odeur de beurre rance.

Sur la gélose inclinée, colonies rondes, régulières, opaques, d'un blanc d'ivoire, comme les taches de bougie.

Sur la pomme de terre, colonies surélevées, épaisses, d'une coloration blanc mat.

Gélatine liquéfiée très vite. Dans les milieux liquides, trouble prononcé. Au bout de deux jours, il se forme un dépôt filant, gluant, blanc. Le glucose est attaqué très légèrement avec production d'une légère acidité. Lait coagulé avec liquéfaction consécutive et complète du caillot. N'attaque ni l'amidon ni le blanc d'œuf cuit. Pas d'indol. Il ne s'est jamais montré pathogène.

2. *Streptobacille* (fig. 1). — Isolé d'une angine aiguë non diphtérique. Se présente sous la forme de bacilles petits, à bouts découpés, plus courts que l'acidophile, toujours en chaînettes plus ou moins longues de 50 éléments et plus. Prend le Gram. Immobile, pousse à 37 degrés de préférence. Sa vitalité n'est guère durable. Anaérobie strict.



Fig. 2. — *Même streptobacille.* Colonies de huit jours, en gélose sucrée.

En gélose sucrée profonde pousse déjà en vingt-quatre heures, d'abord les colonies (fig. 2) sont plus ou moins irrégulières, puis elles deviennent hérissées, allant jusqu'à plusieurs millimètres de diamètre. Sur gélose inclinée pousse très difficilement, comme une tache rosée, à peine perceptible, granuleuse au microscope.

Le bouillon reste limpide avec dépôt floconneux. Acidité très forte en bouillon sucré.

Lait coagulé après quelques jours seulement.

Gélatine liquéfiée. Pathogène pour la souris (abcès passager).

Se distingue du *Streptobacillus gracilis* (Guillot et Hallé) par la coloration par le Gram, par l'aspect des colonies dans la gélose sucrée profonde. Se distingue du *Streptobacillus urethræ* (H. Pfeiffer) par la présence du pouvoir pathogène et par son caractère d'anaérobie strict. Se différencie enfin, par les dernières propriétés, du *B. acidophilus*.

3. *Leptothrix buccalis* (fig. 3). — Se rencontre dans toutes les bouches. Filaments minces ou épais, isolés ou enchevêtrés, souvent en segments bacillaires, réunis par une espèce de gaine qui se colore mal. Sa longueur va jusqu'à quelques dizaines de μ; bouts découpés ou arrondis, quelquefois légèrement effilés, et dans un seul cas les bouts étaient renflés sphériquement. Jamais de ramifications vraies. Pas de spores. Prend le Gram, qu'il garde souvent assez inégalement. Traité par l'iode, les filaments sont légèrement violets. Non mobile. Pousse à 20 et 37 degrés. Anaérobie strict.

Pousse bien en gélose sucrée profonde après isolement dans le sérum agar. Ses colonies deviennent apparentes après quarante-huit heures, comme des points transparents, plus tard le centre devient opaque; à la périphérie, fines striations, visibles seulement au microscope. Après plusieurs jours, colonies plates, rondes, opaques, à bords tranchants, atteignant plusieurs milimètres de diamètre. Pas de gaz, pas d'odeur.

Dans les milieux liquides, pousse mal; en bouillon sucré léger trouble, dépôt en petits grumeaux; le bouillon devient légèrement acide: odeur fade.

Lait non coagulé.

Gélatine non liquéfiée. Amidon attaqué avec légère production de sucre dans plusieurs cas.

Non pathogène.

Ressemble au *Leptothrix Lewkowicz*, mais en diffère par l'absence de pouvoir pathogène, la coloration par le Gram et par l'absence de conidies constantes. Diffère du *Leptothrix* Robin par la non-liquéfaction de la gélatine, par la non-croissance sur pomme de terre; du *Bacillus maximus buccalis* Vignal et du *Leptothrix maximus* Miller, en ce qu'il est anaérobie strict, immo-



Fig. 3. — *Leptothrix buccalis*. Culture en gélose sucrée de 7 jours. Gr. = 1800 d.

bile, ne sporule pas et ne liquéfie pas la gélatine; du *Bacterium Iogenum* Baumgarten par son caractère d'anaérobie strict, par l'absence de croissance sur gélose inclinée.

4. *Vibrion* (fig. 4). — Rencontré dans les bouches normales mais mal tenues et dans une pyorrhée. Virgule à bouts légèrement arrondis ou effilés, isolée ou par paires, donnant alors la forme de spirille. Dimension un peu plus grande que le vibrion cholérique. Ne prend pas le Gram. Très mobile, mouvements en tourbillon. Vitalité grande dans les milieux à sérum : de 7-8 jours dans l'agar sucré. Anaérobie strict, pousse à 37 degrés.

En milieu de Mühlens (gélose ordinaire avec sérum de cheval) colonies rondes, régulières, plates, couleur saumon; au microscope légèrement granuleuses à la périphérie.

En gélose sucrée profonde après quarante-huit heures, colonies à peine

visibles à l'œil nu; au microscope, elles sont transparentes, granuleuses: le maximum du développement atteint en 6 jours : colonies de plusieurs millimètres de diamètre, opaques au centre et légèrement translucides et tranchantes sur les bords. Les vibrions jeunes présentent au bout un point réfringent; après deux, trois semaines le vibrion ne se colore plus bien, il n'y a que le centre qui est coloré, ressemblant à un noyau. Il y a des formes d'involution (fig. 5), qui sont plus longues, spiralées avec renflements sphériques au milieu ou au bout.

Ces colonies, contenant des formes d'involution, ensemencées donnent très



Fig. 4. — *Vibrions.* Culture en gélose sucrée de 2 jours. Gr. = 1800 d.

vite, au bout de quelques jours, ces formes d'involution. Pas de spores. Pousse mal dans les milieux liquides. Le bouillon sucré n'est pas attaqué.

Gélatine : une seule fois nous l'avons vue liquéfier très lentement. Lait acidifié sans coagulation. Amidon attaqué avec production abondante du sucre. Pas d'indol. Non pathogène.

Ressemble au vibrion Repaci (B), mais en diffère par aspect non floconneux des colonies dans gélose sucrée profonde, par non-activité sur les milieux sucrés, par la présence de formes d'involution et son activité sur l'amidon.

5. *Petit vibrion* (fig. 6). — Très petit vibrion, isolé de la pyorrhée. Gram négatif. Très mobile, mouvements en tourbillon. Vitalité de trois semaines. Anaérobie strict, pousse seulement à 37 degrés.

En gélose-sérum, colonie (fig. 7) veloutée, irrégulière, couleur rosâtre. En gélose sucrée profonde, on commence à voir les colonies comme de petits



Fig. 5. — *Mêmes vibrions.*
Cultures de 10 iours, en gélose sucrée avec formes d'involution (Burri). Gr. = 1800 d.

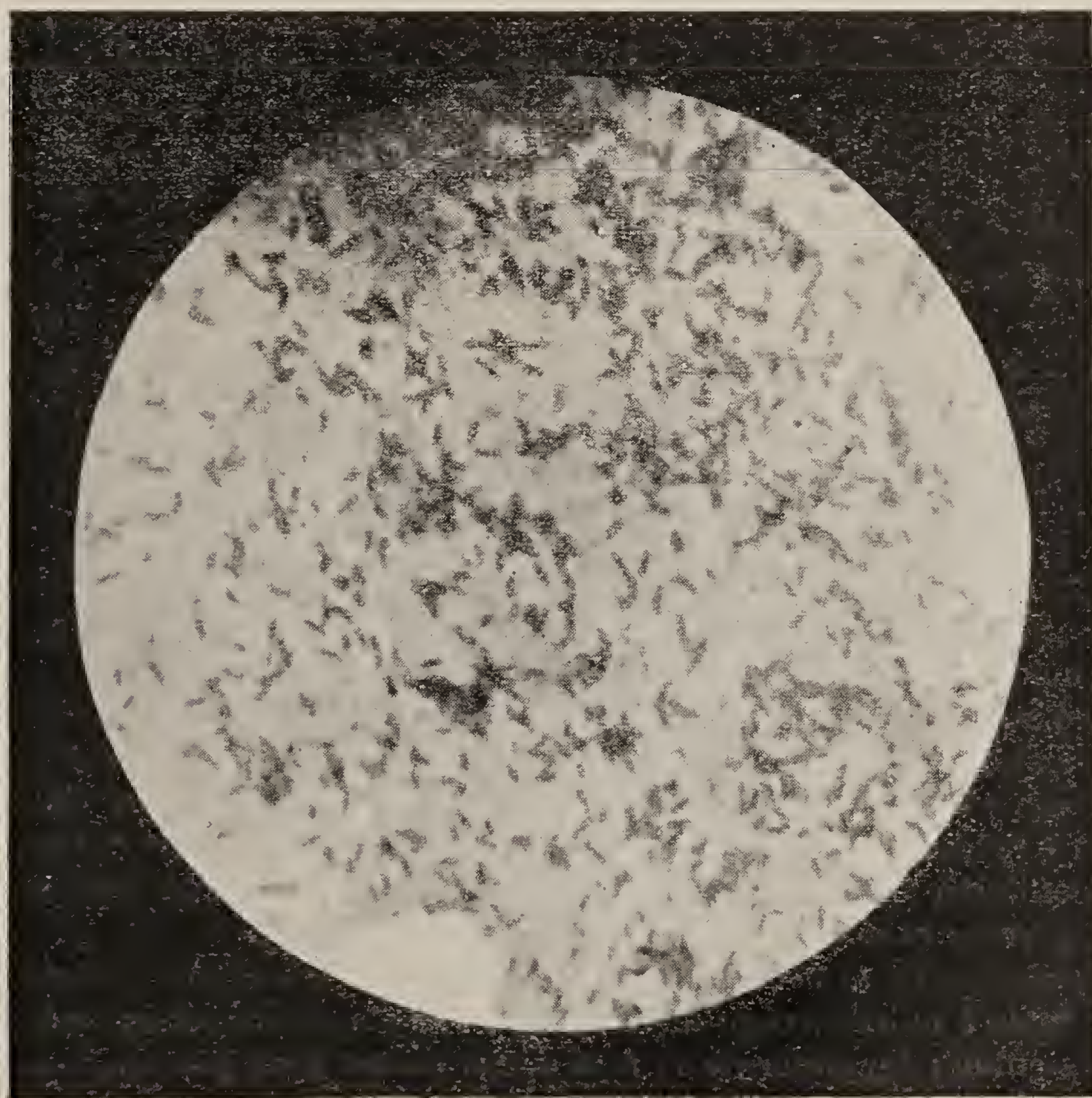


Fig. 6. — *Petit vibrion.* Culture de 2 jours, en gélose sucrée. Gr. = 1800 d.

points transparents et veloutés au bout de 3-4 jours, puis en une semaine elles deviennent comme une petite boule de neige, transparentes et laiteuses

Pousse mal dans les milieux liquides ordinaires, pousse dans le bouillon avec sérum de cheval : le milieu reste limpide. Pas de formes d'involution.

En gélatine, colonie ronde, transparente, veloutée; gélatine pas liquéfiée. Lait acidifié, non coagulé. Amidon : légère quantité de sucre. Non pathogène.



Fig. 7. — *Même petit vibrion.* Colonies en gélose sucrée de 10 jours. Gr. = 3 d.

Ressemble au vibrion Repaci (A.), mais en diffère par l'aspect des colonies en boule de neige en gélose sucrée profonde, par l'absence de trouble du bouillon, par l'absence de l'attaque du bouillon sucré et par absence de pathogénité. Diffère des *Vibrio nasalis* et *Vibrio lingualis* (Weibel) par son caractère d'anaérobie strict et sa mobilité très grande.

6. *Spirochète mince* (fig. 8 et 8′).— Isolé de bouches normales et de la bouche à pyorrhée, très mince, à spires plates peu profondes et irrégulières, les spires au nombre de deux ou trois au plus, la longueur de 4 à 8 μ; on trouve les formes presque rectilignes. Anaérobie strict. Mobile : mouvement d'oscillation et mouvements autour de l'axe. Gram négatifs. Vitalité de 8 à 10 jours dans l'agar sucré. Pousse à 37 degrés.

En sérum-agar, les colonies apparaissent vers le 8e jour, veloutées floconneuses. Le spirille se cultive dans l'agar sucré, seulement après quelques passages dans agar-sérum.

En gélose sucrée profonde, les colonies (fig. 9) sont visibles seulement après 3-4 jours; au microscope comme des points transparents; après 7-8 jours colonies veloutées, nuageuses avec centre plus opaque. Le milieu est quelquefois troublé; les colonies sont très adhérentes à la gélose. Pas de gaz. Obtenu 7 générations.

En bouillon sucré, léger trouble, odeur de putréfaction peu prononcée, acidité marquée.

Lait acidifié, mais non coagulé.

En gélatine pas de croissance. Amidon non attaqué. Non pathogène.

Ressemble à *Spirochæta dentium* Mühlens, Hartmann, en diffère par sa dimension plus petite, par l'absence d'odeur très fétide, par l'absence de formes d'involution à renflements sphériques; se diffère de *Spirochæta dentium* Hoffmann et Prowazek et *Microdentium* de Noguchi par absence de spires serrées et multiples, par absence d'odeur fétide.

7. *Spirochète de la bouche* (fig. 10). — Isolé une fois d'une pyorrhée. Spirochète épais à spires irrégulières, grosses et plates; bouts arrondis et quelquefois effilés; longueur de 12 à 20 μ. Se colore bien par Giemsa et Burri.



Fig. 8. — *Spirochète mince* des interstices dentaires et de la langue. Culture de 4 jours, en gélose sucrée. Gr. = 1800 d.

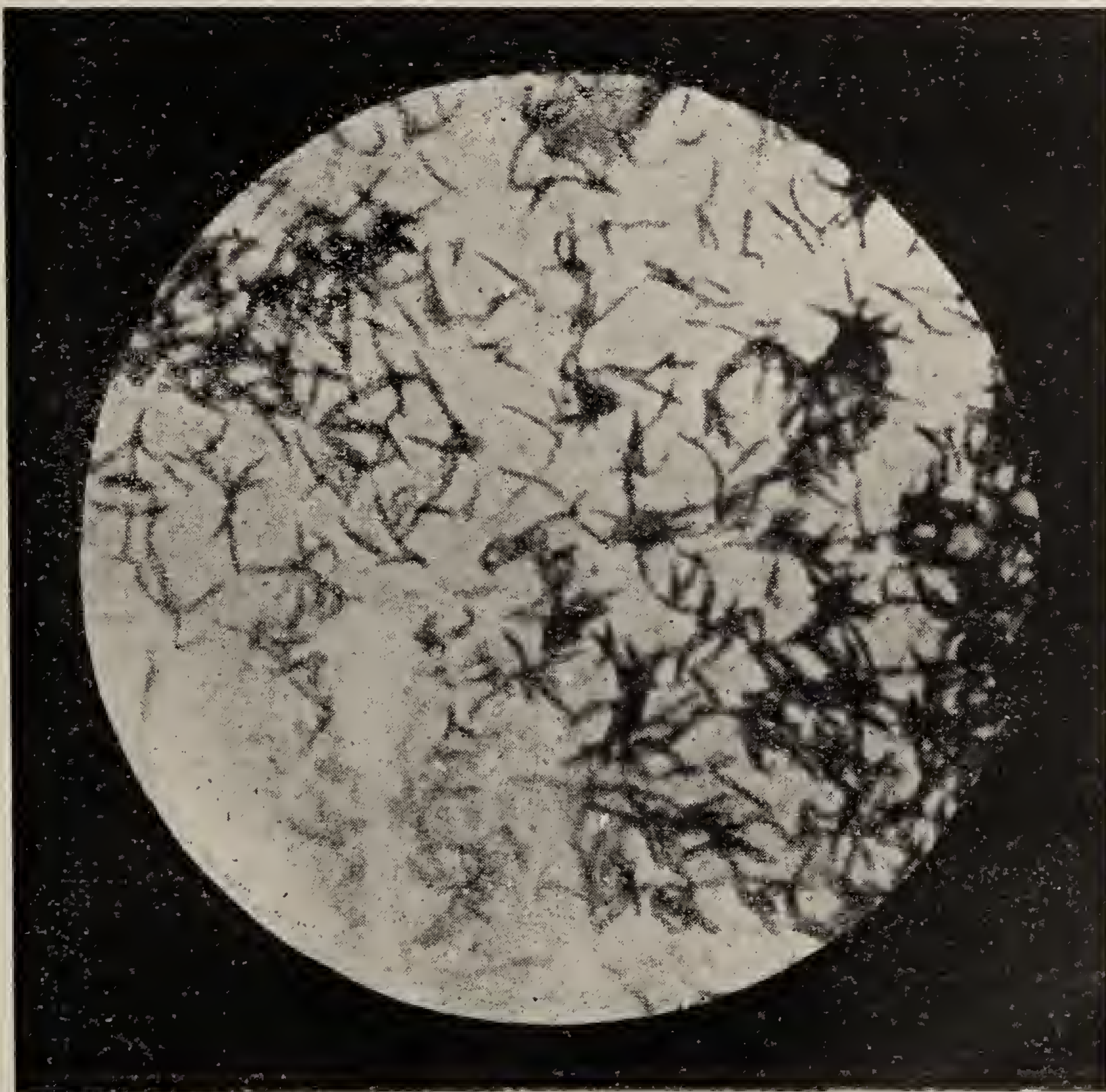


Fig. 8'. — *Spirochète mince* des interstices dentaires et de la langue. Culture de 2 jours, en gélose sucrée. Gr. = 1800 d.

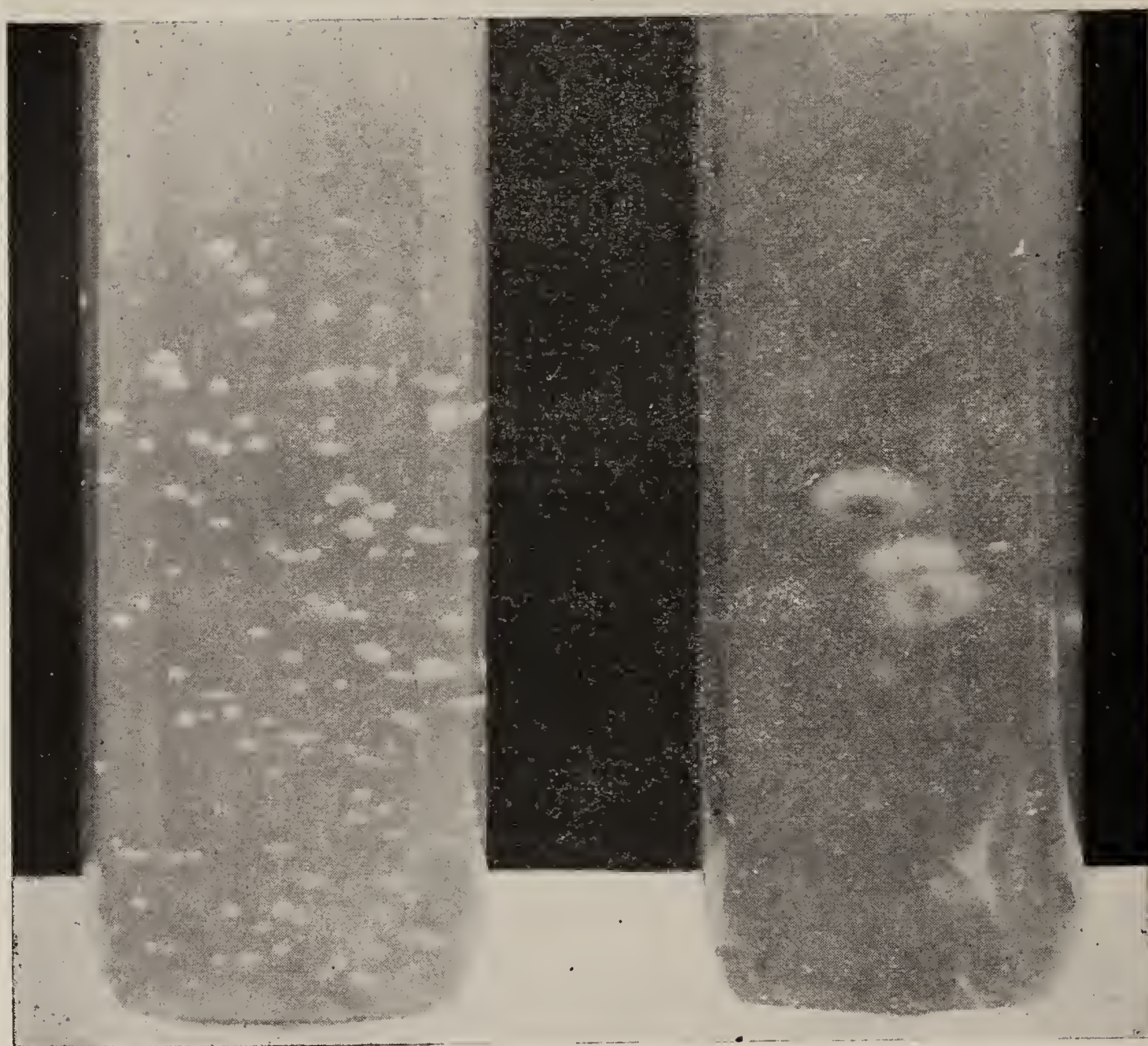


Fig. 9. — *Même spirochète.* Colonies de 10 jours et 14 jours, en gélose sucrée. Gr. = 3 d.

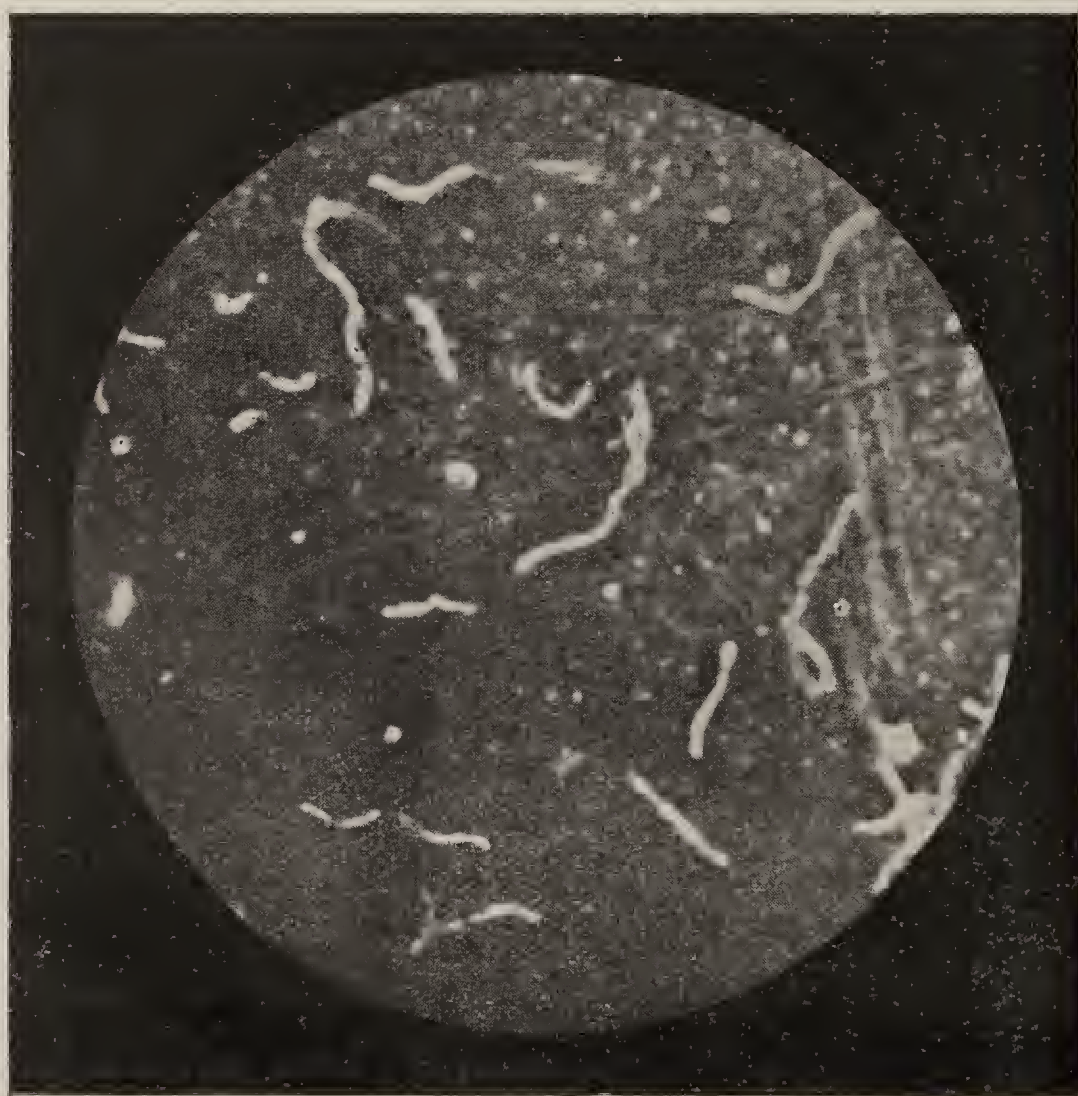


Fig. 10. — *Autre spirochète*, isolé des interstices dentaires dans un cas de pyorrhée. Culture de 10 jours, sur gélose-sérum (Curri). Gr. = 1000 d.

Mobile; mouvements ondulatoires et autour de l'axe. Pousse à 37 degrés. Vitalité : 6 à 7 jours. Anaérobie strict.

Dans le sérum-agar, colonie ronde, volumineuse, 2-3 millimètres de diamètre, blanchâtre, nuageuse avec courts et fins prolongements rayonnants. Se dissocie très difficilement de la gélose. Odeur légère de putréfaction. Ne pousse pas dans les milieux liquides ordinaires, ni dans le lait, amidon et gélatine.

Ressemble au *Spirochæta buccalis* décrit par Mühlens, au spirochète (B) de Repaci, au *Microdentium* de Noguchi et enfin au *Spirochæta buccalis* de Hoffmann et Prowazek. Mais la comparaison de spirochètes décrits par différents auteurs ne peut être faite complètement, les spirochètes n'étant pas encore en général étudiés d'assez près; nous-même n'avons pu observer qu'une génération en culture pure de celui que nous décrivons.

BIBLIOGRAPHIE

ANIZKOFF et PLATONOFF. — Die Verunreinigung des Mundes, etc. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXIII, 1898.

ARUSTOMOW. — Leptothrix. *Vratch*, n° 34, 1899.

BIENSTOCK. — Putrificus. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIII.

BIONDI. — Les micro-organismes pathogènes de la salive. *Zeitsch. f. Hygiene*, Bd II, p. 194, 1887.

BONNAIRE et KEIM. — Bouche chez le nouveau-né. *Presse Médicale*, 1er août 1900.

CAMPO. — Bouche chez les nourrissons. *Jahrb. f. Kinderheilk.*, Bd LI, 1900.

ELLERMANN. — Culture du bacille fusiforme. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXXVII, 1904.

GABRITCHEVSKY. — *Bactériologie médicale*, 1909, 4e édition, Moscou (en russe).

GALIPPE. — Les microbes de la bouche. *Journ. des connaiss. médic.*, 1887.

GOADBY. — Micro-organisme de la carie dentaire. *Transact. of Dental Society.*

GÜNTER. — *Traité de Bactériologie.* Saratow, 1904, 3e édition (en russe).

HOFFMANN et PROWAZEK. — Unters. über die Balanitis und Mundspiroch. *Centralbl. f. Bakt.*, 1906, Bd XLI, 741, 817.

HUGENSCHMIDT. — *Etude expérimentale des divers procédés de défense de la cavité buccale contre l'invasion des bactéries pathogènes.* Edition Steinheil.

JACOBSON. — Flore normale des selles du nourrisson. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1908, p. 302.

JEANNIN. — Flore microbienne de la bouche du nourrisson. *Soc. d'obstét. de France*, 1904.

JUNGANO et DISTASO. — *Les anaérobies*, Masson, 1910.

KUSTER. — Die Flore der normalen Mundhöhle. *Handbuch der pathog. Microorgan.*, Kolle und Wassermann, 1913.

KUTSCHER. — Les vibrions et spirilles. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1895, n° 20.

LEHMANN et NEUMANN. — *Bacteriologie* et *Atlas.* München, 1912.

LEMOINE. — Variabilité des streptocoques. *Arch. de méd. exp.*, vol. VIII, 1896.

LEWKOWICZ. — Bacille fusiforme. *Centralbl. f. Bakt.*, 1906, Bd XLI, p. 153.

— Flore de la bouche chez les nourrissons. *Arch. de méd. exp.*, n° 4, 1901.

LÖWENTHAL. — Les spirochètes de la bouche. *Mediz. Klin.*, Bd. XLI, n° II, 1906.

MILLER. — *Die Mikroorganismus der Mundhöhle.* Leipzig, 1897.

Mühlens. — Fusiforme. *Deutsch. med. Woch.*, n° 10, 20, 1906.
— et Hartmann. — Fusiforme et *Spirochæta dentium. Zeitschr. f. Hyg.*, 1906, 1907, p. 55, 81.
— Spirochètes des dents. *Arch. de physiol. et path. gén.*, 1899.
Netter. — Du microbe de la pneumonie dans la salive. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1887.
— *Bulletin Médical*, 1er mai 1887.
Nobécourt et de Vicarus. — Flore de la bouche normale. *Arch. génér. de méd.*, 82e année, t. II.
— Etude sur les streptocoques. *Journ. de phys. et path.*, 1899.
Noguchi. — *Journal Am. Med. Ass.*, nos v, xiv, lvii, 1911. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, n° 6, 1912.
— Culture de spirilles de la bouche. *The Journ. of exp. med.*, p. 81, 91-100, 201-204 et 466..
— *Presse Médicale*, oct. 1913.
Podbielsky. — *Centralbl. f. Bakt.*, Bd IX, p. 617, 1891.
— *Thèse* de l'université de Kasan.
Repaci. — Flore normale de la bouche. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1909, t. LXVI.
— Les anaérobies de la bouche normale. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1909, I, p. 591 et 860.
— Les microbes spirillés de la bouche. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1912.
Rodella. — Mundhöhle. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXXVII, 1904.
— *Arch. f. Hyg.*, Bd LIII, 1905, p. 328.
— *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXX.
Sanarelli. — *Centralbl. f. Bakt.*, Bd IX.
Tissier. — *Flore intestinale normale et pathologique des nourrissons*, 1900. Edition Georges Carré.
— *Id. Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXII, 1908.
— *Id. Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVII, 1903.
— *Id. Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVI, 1902.
— *Id. Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIX, 1905.
Veillon et Zuber. — Angines aiguës non diphtériques. *Arch. de méd. exp.*, n° 2, 1894 et n° 4, 1898.
Veszpreni. — Fusiforme. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXXVIII, 1905.
Vignal. — Action des micro-organismes de la bouche. *Arch. de phys.*, n° 7, 1887, et novembre 1886.
— et Miller. — Flore de la bouche de l'adulte. *Arch. de phys.*, vol. XVIII.
Vincent. — Fusiformes. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIII, p. 611, 1899.
— *Id. Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1905, p. 499, 772 et 1901.
— *Id. Soc. méd. des Hôpitaux*, 1898.
— *Id. Annales Dermat.*, 1905.
Widal et Bezançon. — Les streptocoques dans la bouche normale et pathologique. *Soc. méd. des Hôpitaux*, 27 juillet 1894.
— *Arch. de méd. exp.*, 1896, n° 8.

Le Gérant : G. Masson.

Paris — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.

29e ANNÉE SEPTEMBRE 1915 N° 9

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

JUBILÉ DE M. LE PROFESSEUR A. LAVERAN

Le 16 juin dernier, M. le professeur A. Laveran atteignait l'âge de soixante-dix ans. Cet anniversaire a été célébré, d'une façon tout intime, le dimanche 20 juin, à 10 h. 1/2 du matin, à la bibliothèque de l'Institut Pasteur, sous la présidence de M. Gaston Darboux, secrétaire perpétuel de l'Académie des Sciences, président du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur. Mme Laveran assistait à la cérémonie.

Aux membres du Conseil d'administration et aux membres de l'Assemblée de l'Institut Pasteur, aux collègues, aux amis, aux élèves de M. Laveran, s'étaient joints des membres de l'Académie des Sciences, de l'Académie de Médecine, de la Société de Pathologie exotique ainsi que des représentants de la médecine militaire.

La séance a été ouverte par une allocution de M. Darboux qui a félicité M. Laveran au nom de l'Académie des Sciences et du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur. Puis la parole a été donnée à M. Roux dont on trouvera plus loin le discours.

M. le professeur Mesnil a donné connaissance d'un grand nombre de lettres et de télégrammes de Sociétés et de person-

nalités savantes et aussi des élèves de M. Laveran dont plusieurs étaient aux armées.

Il a aussi complimenté, en qualité de Secrétaire général de la Société de Pathologie exotique, M. Laveran, qui en est un des principaux fondateurs et le Président depuis près de huit ans.

M. Laveran a remercié les personnes qui ont songé à fêter son 70e anniversaire et il a prononcé l'allocution qu'on lira ci-après.

*
* *

DISCOURS DE M. É. ROUX

Cher monsieur Laveran,

Il y a quarante ans bien comptés, j'étais votre élève au Val-de-Grâce, et, c'est en cette qualité, plus encore qu'en celle de directeur de l'Institut Pasteur, que je réclame le privilège de vous complimenter, à l'occasion de votre soixante-dixième anniversaire.

Avant de vous connaître j'avais eu affaire à votre père, le médecin-inspecteur des armées, Louis Laveran. A mon entrée à l'École d'application, dont il était directeur, je lui avais demandé la faveur de continuer à remplir les fonctions d'aide de clinique à la faculté, près du professeur Béhier. Il me l'avait accordée en me recommandant de profiter des moyens de travail mis à ma disposition et de préparer une thèse originale. J'ai gardé une profonde reconnaissance à ce directeur libéral et bienveillant, d'autant que, l'année suivante, son successeur me tenait un tout autre langage.

De l'autorité du père je passai sous celle du fils; tout d'abord elle me parut moins aimable. J'étais stagiaire à votre service de fiévreux et je suivais votre cours d'hygiène. Le jeune agrégé que vous étiez n'encourageait pas la familiarité de ses disciples. Vous ne leur passiez aucune défaillance. Il fallait arriver à l'heure précise, recueillir correctement les observations et exécuter les prescriptions sans omission. Dès les premiers contacts, nous avions acquis la conviction que pour vivre en

bonne intelligence avec le chef, il n'y avait qu'un moyen, faire consciencieusement sa besogne. D'ailleurs, vous étiez encore plus exigeant pour vous-même que pour les autres. Jamais je n'ai vu clinicien examiner des malades avec plus de soin, professeur se documenter plus exactement. Vous nous donniez l'exemple du travail et de la régularité.

Ce régime me paraissait alors un peu austère; j'ai souvent pensé depuis qu'il était salutaire pour un étudiant, au début de sa carrière, de passer par une semblable école de devoir et de discipline. Que n'ai-je profité de votre enseignement comme je l'aurais dû et que ne vous ai-je pris ces qualités d'ordre et de persévérance sans lesquelles les mieux doués ne sauraient mener à bien une œuvre importante!

A cette époque, les cliniciens se servaient peu du laboratoire. Vous, qui aimiez la précision et qui aviez étudié l'histologie et l'anatomie pathologique à Strasbourg et chez Ranvier, vous aviez constamment recours aux examens microscopiques pour éclairer le diagnostic. Vous aviez installé un laboratoire dans le musée d'hygiène. Ce laboratoire consistait en une table placée dans l'embrasure d'une fenêtre et sur laquelle étaient disposés un microscope avec quelques réactifs. Dans un réduit voisin vous faisiez de rudimentaires opérations chimiques. Vous avez passé beaucoup de temps à cette table, dans une solitude propice au travail et à la réflexion. C'était une faveur pour un élève que d'être admis dans ce sanctuaire. A plusieurs reprises vous m'y avez expliqué des préparations et j'étais fier de cette marque d'estime. Ces visites à votre laboratoire me firent découvrir, qu'en dehors du service, le sévère professeur devenait un maître accueillant, pour qui manifestait quelque curiosité scientifique. Ce fut bien une autre surprise lorsque, des années plus tard, reçu à votre foyer, je trouvai en vous un fervent ami des lettres et des beaux-arts, un hôte plein d'humour, de gaieté et d'entrain. Je n'oublierai jamais les bonnes soirées passées dans cet intérieur qu'embellissait la grâce de Mme Laveran et la spirituelle bonté de votre sœur.

En 1878, vous quittiez le Val-de-Grâce et vous étiez envoyé en Algérie à l'hôpital de Bône.

La principale maladie dans l'Afrique du Nord est le paludisme, cette affection a dressé, contre notre établissement dans

ces régions, plus d'obstacles que la belliqueuse résistance des indigènes. Dès votre arrivée vous étiez aux prises avec le problème de la malaria. On avait signalé des grains d'un pigment noir dans les vaisseaux des malades atteints de paludisme. Vous reconnaissez que la présence de ces grains est constante, et que, dans les cas de fièvre pernicieuse, ils encombrent les capillaires du foie et des centres nerveux. Vous vous attachez à l'étude de ce pigment et vous recherchez systématiquement son apparition dans le sang des malades. Il se rencontre dans l'intérieur des leucocytes, dans des corps en forme de croissant et aussi dans de petits corps accolés aux globules rouges et qui sont capables de mouvements amiboïdes. Lorsque ces corps sont très jeunes, ils ne sont pas pigmentés, mais à mesure qu'ils grossissent, les globules rouges pâlissent et le pigment devient visible. Il paraît se former aux dépens de la matière colorante du sang, sous l'action des amibes développées dans les hématies.

Ces formes ne ressemblaient à aucun des parasites décrits jusque-là, et vous hésitiez à les faire connaître. Mais, en 1880, à Constantine, vous apercevez les corps flagellés qu'il est impossible de ne pas tenir pour des êtres vivants, et vous proclamez que la malaria est causée par le développement, dans les globules rouges, d'un parasite dont l'évolution correspond aux diverses figures que vous publiez.

Il semble que la découverte était bien facile à faire et qu'il n'y avait qu'à regarder. La preuve qu'il n'en est pas ainsi c'est, qu'avant vous, beaucoup d'observateurs avaient regardé et n'avaient rien su voir. Vous avez réussi, parce que vous avez abordé la question avec un esprit libre, et en ne tenant compte que des faits. L'apparition de ces grains de pigment est ce qu'il y a de plus caractéristique dans la malaria, vous concluez qu'il doit exister une relation entre eux et la cause même de la maladie. Ces grains, faciles à distinguer, vous ont, pour ainsi dire, conduit jusqu'au parasite spécifique.

J'imagine qu'avec un autre caractère, vous n'auriez peut-être pas découvert l'hématozoaire du paludisme. Si, au lieu de vous concentrer dans un travail solitaire, vous aviez poursuivi vos recherches dans un laboratoire fréquenté, vous auriez pu être entraîné hors de votre propre sentier et vous engager dans

la voie où tout le monde se jetait, mais qui ne conduisait pas où vous vouliez aller.

Cette grande découverte a été accomplie par la simple observation, et quiconque est habitué à se servir du microscope, peut en vérifier l'exactitude. Elle fut cependant accueillie avec défiance et a dû faire péniblement son chemin. Nous nous en étonnons aujourd'hui, il est cependant tout naturel qu'il en ait été ainsi, car elle ne correspondait pas à ce que l'on attendait et se présentait en contradiction avec les idées du jour. A bien réfléchir, je trouve que vous n'aviez pas lieu de vous plaindre; apportant une chose aussi neuve, vous méritiez d'être encore plus malmené.

Que la malaria fût causée par un microbe, la plupart des savants étaient disposés à l'admettre, mais ce que vous décriviez était si différent des microbes connus, que les plus bienveillants croyaient que vous aviez pris pour des parasites des éléments normaux plus ou moins altérés. Même au laboratoire de Pasteur, où nous étions habitués à voir des coccus et des bacilles, nous ne savions que penser de vos corps pigmentés, de vos croissants et de vos flagelles. Nous étions à trop bonne école pour nous prononcer sans preuve, pourtant nous inclinions du côté de Thommasi Crudeli dont le « Bacillus malariæ » nous offrait une figure plus familière. Toutefois, au milieu des sceptiques il y avait un croyant : c'était un savant naturaliste d'Odessa qui ne se trompa pas un instant sur la valeur de vos recherches. Dans les dessins que vous aviez publiés, il reconnut des formes rappelant celles des coccidies. En donnant un état civil à votre hématozoaire, Élie Metchnikoff facilitait son admission dans le monde.

En 1884, revenu à Paris, vous occupiez la chaire d'hygiène au Val-de-Grâce, où vous étiez aussi médecin d'un service de fiévreux. Un beau matin, vous frappez à la porte du laboratoir de Pasteur qui était votre voisin, et vous nous demandez de venir jusqu'à l'hôpital militaire pour voir le parasite de la malaria. Pasteur, Chamberland et moi, nous vous suivîmes jusqu'à un cabinet qui précédait la salle de malades, et dans lequel vous aviez installé le microscope. Au milieu du champ, un magnifique corps flagellé agitait ses prolongements. Le spectacle était saisissant; il était impossible de ne pas recon-

naître un être vivant dans cette masse protoplasmique repoussant de ses fouets les globules environnants. Vous fîtes passer sous nos yeux des préparations où se voyaient les divers aspects du parasite malarique. Quelle instructive séance! J'en ai gardé le plus vif souvenir. Pasteur si passionné pour la science en était tout ému. Nous vous quittions convaincus et pleins d'admiration.

A la suite de Metchnikoff, des observateurs de plus en plus nombreux confirmaient l'existence du parasite malarique; si bien que, moins de dix ans après vos premières publications, il n'y avait plus guère d'opposants. L'Académie des Sciences, elle-même, était persuadée et vous attribuait le prix Bréant. Alors, certains s'avisèrent que la découverte était de peu de mérite. Pour quelques-uns même, il n'était plus question de découverte mais simplement d'une heureuse trouvaille. Qu'est-ce donc qu'une trouvaille faite à la suite d'une recherche persévérante, ordonnée et systématique, sinon une découverte dans toute la force du terme!

La démonstration de l'existence de l'hématozoaire et l'étude de son évolution dans le sang des paludiques ne suffisent pas à éclaircir l'histoire de la malaria. Comment le parasite pénètre-t-il dans l'organisme humain? Où le rencontre-t-on dans le milieu extérieur? Tant que ces questions ne sont pas résolues, il est impossible d'instituer une prophylaxie efficace contre le fléau. Dès 1884, vous aviez émis une idée qui vous eût certainement conduit à la solution de ces difficultés, si un séjour plus prolongé en Algérie vous eût permis de la poursuivre. Pour vous, les moustiques sont les agents transporteurs du virus malarique, ils le puisent dans le sang des malades et l'inoculent, par piqûre, aux personnes saines. Ronald Ross a prouvé qu'il en est ainsi. Ses recherches mémorables nous ont appris que l'hématozoaire subit une évolution dans le corps de certains moustiques qui, seuls, sont aptes à propager le mal. La prophylaxie de la malaria consiste donc à faire disparaître le parasite du sang des malades par l'administration rationnelle de la quinine, et à se préserver des piqûres de moustiques. La défense mécanique, la destruction des larves, le pétrolage, le dessèchement des gîtes, sont des mesures prises maintenant avec le plus grand succès dans les pays palustres. Vous avez été

un de leurs plus ardents propagateurs, en fondant des ligues antipaludiques et en rédigeant les instructions qu'elles appliquent.

A mesure que le temps s'écoule, l'importance de tous ces travaux nous apparaît plus considérable. Grâce à eux, des contrées que la malaria interdisait à l'Européen sont ouvertes à la civilisation. C'est ainsi que le travail d'un savant peut avoir pour l'humanité des conséquences qui dépassent celles des conceptions de nos plus grands politiques.

Arrivé au terme de votre professorat à l'École du Val-de-Grâce, vous devenez médecin-chef de l'hôpital militaire de Lille et ensuite directeur du Service de Santé, à Nantes. Dans ces fonctions administratives vous étiez privé et de service hospitalier et de laboratoire. La médecine militaire, sur laquelle vos travaux avaient jeté tant d'éclat, ne vous avait pas donné les satisfactions que vous étiez en droit d'attendre, et en 1897 vous preniez une retraite anticipée. Alors, vous êtes venu à l'Institut Pasteur. C'est l'honneur de cette maison d'exercer une attraction sur les esprits désireux de travailler au progrès de la Science, dans la paix et la liberté. Nous avons ressenti une grande fierté quand vous avez pris rang parmi nous; votre renommée ajoutait encore à celle de cet Institut. La place manquant dans la ruche trop remplie, pendant plusieurs années vous vous êtes contenté d'une simple chambre de travailleur. Lorsque le prix Nobel pour la médecine vous fut attribué, vous l'avez généreusement consacré à l'installation de ce laboratoire de protozoologie qui, dans l'avenir, portera votre nom.

On peut dire que depuis 1880 la direction de vos études est fixée. Sans doute, vous avez publié de nombreux travaux de pathologie, d'anatomo-pathologie et d'hygiène qui vous ont mérité une renommée enviable dans chacune de ces branches de la médecine, mais c'est aux parasites du sang que vous avez consacré le meilleur de votre activité. Dans ce chapitre de la science que vous avez ouvert, de nombreuses pages ont été écrites par vous sur les hématozoaires des oiseaux et du singe analogues à celui de la malaria humaine, sur les piroplasmes, sur les trypanosomes. Ces trypanosomes qui, en Afrique, attaquent à la fois les hommes et les animaux, vous ont occupé particulièrement. Par la méthode des immu-

nisations croisées, vous identifiez les diverses espèces de trypanosomes, parfois si difficiles à distinguer entre elles et surtout vous cherchez les médicaments capables d'en débarrasser l'organisme. Le Traité des *Trypanosomes et Trypanosomiases* que vous avez publié avec M. Mesnil est une œuvre magistrale à laquelle ont recours tous ceux qui désirent être documentés sur le sujet. En montrant que plusieurs animaux de laboratoire peuvent être infectés par les *Leishmania* vous avez facilité l'étude des affections causées par ces parasites.

Les travaux faits dans cette direction intéressent l'avenir des pays tropicaux et notamment de plusieurs de nos colonies. Ils sont de plus en plus nombreux en France, les chercheurs engagés dans la voie que vous avez montrée; aussi, leur a-t-il paru utile de fonder une société qui servirait de trait d'union entre eux. Ils se sont groupés autour de vous; et, depuis huit ans, vous présidez la Société de Pathologie exotique. Vous l'avez si bien dirigée, que, même dans les temps troublés que nous traversons, son activité n'a pas été atteinte. Le bulletin qu'elle publie est devenu indispensable à qui veut se tenir au courant de la pathologie des pays tropicaux.

Près de cinquante années se sont écoulées depuis vos premières productions scientifiques; ce demi-siècle de labeur n'a diminué ni votre dévouement à la science, ni vos forces. Toujours le premier arrivé au laboratoire, vous êtes la vivante démonstration que rien ne conserve mieux la santé morale et la santé physique qu'un travail ordonné et régulier.

Vous vous défendiez, cher Monsieur Laveran, contre toute manifestation à l'occasion de cet anniversaire, celle d'aujourd'hui est si intime qu'elle ne peut froisser votre modestie. Tous les camarades que la guerre tient éloignés s'y associent en pensée. Cette réunion nous permet de vous dire nos souhaits pour le succès des recherches que vous avez en chantier. Pour une fois, elle nous met à même de vous exprimer collectivement notre admiration pour votre œuvre, nos vœux affectueux pour votre personne, et notre reconnaissance pour le bel exemple que vous nous donnez par la dignité de votre vie et par l'élévation d'un caractère qui n'admit jamais de compromission.

16 juin 1915.

RÉPONSE DE M. LE Dr LAVERAN

Mon cher Président,

Je vous remercie sincèrement des paroles si cordiales, et beaucoup trop élogieuses pour moi, que vous venez de m'adresser au nom de l'Institut de France et au nom du Conseil de l'Institut Pasteur.

Mon cher confrère et ami,

Vous venez d'évoquer des souvenirs qui me sont chers; mon père était un esprit large et libéral, il aimait la science et les travailleurs, vous deviez nécessairement, vous et lui, vous comprendre.

Je vous remercie d'avoir rappelé que j'avais été votre Maître il y a quarante ans, c'est un grand honneur pour moi de vous avoir compté parmi mes élèves; heureusement pour vous, peu après avoir quitté le Val-de-Grâce, vous entriez dans le laboratoire du Maître des Maîtres, de Pasteur.

Après avoir résumé, avec votre précision et votre clarté habituelles, mes travaux sur l'hématozoaire du paludisme, vous avez ajouté que très probablement je n'aurais pas abouti si je m'étais engagé dans une des voies déjà suivies par mes prédécesseurs; cela n'est pas douteux.

Si j'avais cherché, comme on l'avait fait jusqu'alors, l'agent du paludisme dans l'air, dans l'eau ou dans le sol des localités marécageuses, je ne l'aurais pas trouvé, par l'excellente raison qu'il n'existe, à l'état libre, dans aucun de ces milieux. C'est l'étude de l'anatomie pathologique qui m'a fourni les jalons nécessaires pour arriver au but.

Le protozoaire polymorphe que j'ai décrit, en 1880, comme étant l'agent du paludisme, était trop imprévu pour n'être pas mis en doute; c'était la première fois que les médecins entendaient parler d'un hématozoaire endoglobulaire pathogène. Aujourd'hui, ces protozoaires sont légion et l'on s'étonne des oppositions si vives que j'ai rencontrées.

Il faut dire aussi que la technique pour l'étude de ces para-

sites n'existait pas ; la technique en usage pour l'étude des bactéries donnant ici de mauvais résultats, il fallut en créer une autre pour mettre en évidence la structure des nouveaux protozoaires.

Je vous remercie d'avoir rappelé que, dès 1884, j'ai signalé les moustiques comme étant vraisemblablement les hôtes intermédiaires et les agents de transmission de l'hématozoaire du paludisme. R. Ross, auquel revient l'honneur d'avoir fourni la démonstration de ce rôle des moustiques, rôle capital au point de vue de la prophylaxie du paludisme, a reconnu qu'il avait été utilement guidé par mes inductions.

Grâce à l'excellent accueil que M. Duclaux et vous-même, mon cher ami, m'avez fait à l'Institut Pasteur, lorsque j'ai quitté la Médecine militaire, grâce au laboratoire que vous avez mis à ma disposition, j'ai pu continuer mes travaux et faire les recherches sur les piroplasmoses, les trypanosomiases et les leishmanioses, que vous avez bien voulu mentionner.

Je vous remercie de vos bons souhaits pour la continuation de mes travaux, permettez-moi de vous adresser les miens : j'espère, nous espérons tous ici, que, longtemps encore, vous continuerez à diriger cette Maison de Pasteur qui nous est si chère et à la prospérité de laquelle vous avez tant contribué.

COMMENT LE BOUTON D'ORIENT SE PROPAGE-T-IL?

par A. LAVERAN.

La découverte faite par J.-H. Wright du protozoaire, connu sous le nom de *Leishmania tropica*, qui est l'agent du bouton d'Orient, a mis à néant toutes les anciennes théories qui attribuaient cette dermatose aux conditions climatiques, aux eaux de mauvaise qualité, etc.; mais si nous savons pourquoi le bouton se développe, la question du mode d'introduction du germe pathogène dans l'économie reste obscure ; c'est ce point particulier de l'histoire du bouton d'Orient que je me propose d'étudier.

I. Le bouton d'Orient est inoculable. — Des faits très nombreux démontrent que le bouton d'Orient est inoculable à l'homme et à différents animaux.

Dès 1854, Willemin entreprend quelques expériences à ce sujet (1) ; il inocule, à Alep, 16 personnes : 6 enfants alepins, 9 étrangers, la plupart adultes, et un alepin âgé de dix-huit ans ayant eu le bouton dans son enfance; les inoculations faites avec le pus d'un bouton ulcéré provoquent dans 4 cas (2 enfants, 1 étranger et l'alepin âgé de dix-huit ans) l'apparition, au point d'inoculation, dès le quatrième ou cinquième jour, de boutons pustuleux qui, au bout de quinze à vingt jours, sont complètement cicatrisés. D'après ce que nous savons aujourd'hui de l'évolution du bouton d'Orient, le diagnostic des lésions provoquées dans ces cas doit être considéré comme douteux.

Weber essaye sans succès à Biskra, en 1873 et 1874, l'inoculation du bouton chez plusieurs personnes à l'aide du liquide séro-purulent de boutons ulcérés ; mais, en 1875, il obtient des

(1) Willemin, *Gaz. méd. de Paris*, 1854, p. 256.

résultats qu'il qualifie de certains (1) chez 2 personnes inoculées avec la croûte prise sur un bouton récent; la croûte réduite en poudre sert à charger une lancette à vaccin mouillée. Une des personnes inoculées est le Dr Moty; l'inoculation faite à la cuisse a pour conséquence, au bout de trois jours, l'apparition d'un clou de Biskra; 8 autres clous se développent successivement. La grande compétence des docteurs Weber et Moty, qui, à Biskra, avaient vu beaucoup de malades atteints du bouton, constitue évidemment une sérieuse présomption en faveur de leur diagnostic; mais, d'autre part, la très courte durée de l'incubation est bien anormale.

Depéret et Boinet, en 1884, décrivent un microcoque comme étant l'agent du bouton d'Orient et ils croient avoir reproduit le bouton chez l'homme (2 fois sur 6), chez le cobaye, le lapin, le chien et le cheval, à l'aide de cultures de ce microbe (2).

D'après Boigey, le germe du bouton d'Orient peut rester virulent dans les croûtes conservées d'une année à l'autre à l'abri de la lumière; 3 inoculations pratiquées dans ces conditions auraient donné des résultats positifs; les croûtes exposées pendant six heures à la lumière et à la chaleur solaire perdent, au contraire, leur virulence (3).

Loghman cite une série d'inoculations du bouton d'Orient faites avec succès par des médecins persans; les observations sont données trop succinctement pour qu'il soit possible d'apprécier leur valeur (4).

Les juifs de Bagdad, ayant constaté que, en général, le bouton d'Orient ne récidivait pas, pratiquaient naguère l'inoculation du bouton à leurs jeunes enfants, en choisissant à cet effet une partie du corps habituellement couverte par les vêtements; ils se proposaient d'éviter ainsi l'infection par les agents naturels et les vilaines cicatrices que laissent les boutons de la face ou des mains (5).

Les inoculations préventives sont encore en usage dans certaines régions d'Orient. Le Dr Saati de Mousul a fait connaître

(1) Weber, *Rec. mém. de méd. militaire*, 1876, 3e série, t. XXXII, p. 49.
(2) Ch. Depéret et Ed. Boinet, *Archives de méd. militaire*, 1884, t. III, p. 296 et 321.
(3) Boigey, *Arch. gén. de méd.*, 1907, t. I, p. 613.
(4) Mohammed Loghman, Thèse inaugurale, Paris, 1908.
(5) Patrick Manson, *Tropical Diseases*, 5e édit., p. 217.

au Dr Wenyon qu'il avait pratiqué ces inoculations 36 fois environ et que les résultats avaient été très satisfaisants ; le bouton apparaissait au bout de deux mois environ (1).

Boigey (*op. cit.*) a vu des fusiliers de la compagnie de discipline en garnison à Biskra qui s'étaient inoculé le bouton pour se soustraire aux obligations du service militaire.

Les auto-inoculations sont souvent accidentelles : l'affection étant prurigineuse, les malades s'excorient en se grattant et s'inoculent au voisinage de la lésion initiale ; on s'explique ainsi que le même malade soit en général porteur de plusieurs boutons.

L'étude expérimentale du bouton d'Orient, très difficile lorsqu'on ne connaissait pas l'agent pathogène, et qu'on n'expérimentait que sur l'homme, est devenue beaucoup plus facile et plus précise, depuis la découverte de la *Leishmania tropica* et de son inoculabilité à différentes espèces animales.

Marzinowsky a réussi à s'inoculer le bouton d'Orient en s'introduisant sous la peau de la main un petit lambeau de tissu très riche en parasites. La lésion est devenue visible soixante-dix jours après l'inoculation et, au bout de dix-sept jours, le bouton était bien formé. Le bouton qui fut excisé contenait de nombreuses *Leishmania*. Quelques jours après l'excision, un deuxième bouton se montra dans la cicatrice du premier ; excisé six mois après l'inoculation, le deuxième bouton était, comme le premier, bourré de *Leishmania* (2).

C. Nicolle et L. Manceaux ont pratiqué chez l'homme des inoculations à l'aide de cultures de la *L. tropica*. Les inoculations, faites par scarification de la peau de l'avant-bras, ont donné un résultat douteux ; par inoculation intradermique, un résultat positif a été obtenu après une incubation de six mois environ (3).

Wenyon (*op. cit.*) a inoculé une dame européenne à l'avant-bras gauche avec l'exsudat d'un bouton d'Alep riche en *Leishmania*. La scarification qui avait servi à l'inoculation

(1) C.-M. Wenyon, *Parasitology*, octobre 1911, t. IV, p. 273.
(2) E.-J. Marzinowsky, *Zeitschr. für Hyg. und Infektionskr.*, 1907 et Thèse, Moscou, 1909.
(3) C. Nicolle et L. Manceaux, *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1910, t. XXIV, p. 698.

guérit complètement, et c'est seulement au bout de sept semaines qu'un bouton typique se montra au point d'inoculation, sous l'aspect d'une petite papule.

Le même observateur s'est inoculé lui-même, par scarification, avec le matériel fourni par un bouton d'Orient, à Alep (1). Au bout de six mois et demi, alors qu'il était rentré en Angleterre, Wenyon fut pris de fièvre avec troubles intestinaux et il vit se développer, au point d'inoculation, une papule rouge ; peu après, deux papules plus petites apparurent au voisinage de la première. Des *Leishmania* furent trouvées dans ces papules. Au moment de l'inoculation, de la matière virulente avait été placée sur un point non lésé de la peau ; aucun bouton ne se développa en ce point, ce qui montre, dit Wenyon, que la *L. tropica* ne peut pas traverser la peau saine.

Patton s'est inoculé avec succès le bouton de Cambay ; l'incubation a été de seize jours seulement (2).

Nicolle et Sicre ont réussi à inoculer le bouton d'Orient à un *Macacus sinicus* (3). Nicolle et Manceaux ont inoculé avec succès au moyen du virus humain : un *Macacus cynomolgus*, un *M. rhesus* et un *M. inuus* ; 3 *M. sinicus* inoculés dans le derme avec des cultures de la *L. tropica* se sont également infectés. Avec le virus des boutons du singe, les auteurs ont réalisé l'inoculation en série du singe (3 passages) et 2 fois celle de l'homme. Le passage de singe à chien a également réussi (4).

Row a inoculé avec succès à un *M. sinicus* le virus humain du bouton de Cambay et il a obtenu des passages de singe à singe (5).

Laveran a inoculé avec succès des macaques au moyen de cultures de la *Leishmania* du bouton de Delhi et avec le virus fourni par des souris infectées par la *L. tropica* d'origine africaine (6).

(1) C.-M. Wenyon, *Journ. London School of trop. med.*, juillet 1912, t. I, p. 224, 225.

(2) W.-S. Patton, *Scientif. Mem. by Offic. of the med. a. sanit. Dep. of the Gov. of India*, 1912, n° 50.

(3) C. Nicolle et A. Sicre, *Soc. de Biologie*, 20 juin 1908 et *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, juillet 1908.

(4) C. Nicolle et L. Manceaux, *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1910 et *Soc. de path. exotique*, 8 mars 1911.

(5) R. Row, *Brit. med. Journ.*, 24 septembre 1910.

(6) A. Laveran, *Soc. de path. exotique*, 9 octobre 1912 et 11 novembre 1914, *Annales de l'Institut Pasteur*, février 1915, t. XXIX, p. 80.

Nicolle et Manceaux ont reconnu que le bouton d'Orient était inoculable au chien (1).

Laveran a obtenu de beaux boutons chez des chiens en les inoculant sur des souris infectées par la *L. tropica* (2).

L'inoculation intradermique du virus du bouton d'Orient provoque, chez le singe et chez le chien, des accidents locaux qui ont la plus grande ressemblance avec ceux qu'on observe chez l'homme ; l'infection locale ne se complique jamais, chez ces animaux, non plus que chez l'homme, d'infection générale. Chez la souris, au contraire, les accidents locaux se compliquent assez souvent d'infection générale (3) ; il peut même arriver que l'inoculation provoque d'emblée, chez cet animal, une infection générale (4).

Laveran a réussi à obtenir des infections localisées chez le rat blanc, chez le cobaye, chez le loir, chez *Meriones Shawi* et chez *Gerbillus hirtipes* (5) ; ces derniers animaux étant communs en Tunisie, il est intéressant de constater qu'ils sont sensibles au virus du bouton.

II. Le bouton d'Orient est, dans certaines conditions, transmissible, importable ; il se développe souvent sur des excoriations ou sur d'autres lésions cutanées. — La contagiosité du bouton d'Orient a été contestée par un grand nombre d'auteurs, ce qui tient sans doute à ce que les conditions sont souvent défavorables à l'observation des faits de contagion. Dans les foyers endémiques, un grand nombre de personnes jouissent d'une immunité plus ou moins complète, acquise à la suite d'une première atteinte ; la durée de l'incubation, souvent longue, est aussi une circonstance défavorable ; enfin, en dehors des foyers endémiques, il arrive fréquemment que les conditions de température ou autres, nécessaires au développement

(1) C. Nicolle et L. Manceaux, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 4 avril 1910 et *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1910.

(2) A. Laveran, *Soc. de path. exotique*, 9 décembre 1914 et observations inédites.

(3) A. Gonder, *Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, 1913. — A. Laveran, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 5 octobre 1914 ; *Soc. de path. exotique*. 11 novembre 1914 et 9 juin 1915 : *Annales de l'Institut Pasteur*, février 1915.

(4) R. Row, *Soc. de path. exotique*, 8 avril 1914.

(5) Observation inédite.

des *Leishmania*, et des insectes qui les propagent vraisemblablement, ne sont pas remplies.

Il existe, dans la science, bon nombre de faits qui montrent que le bouton d'Orient est transmissible, importable même en dehors de ses foyers, au moins dans certaines conditions.

Laveran cite le cas d'une femme qui fut atteinte de boutons de Biskra après avoir soigné sa fille âgée de six ans, qui présentait sur la face et sur les avant-bras une dizaine de boutons ulcérés, bien caractérisés (1).

Mohammed Loghman a vu à Téhéran, dans une famille dont un des membres était atteint du bouton d'Orient, deux autres cas se produire à quinze jours et à six semaines de distance (*op. cit.*).

Tomkinson cite le fait d'une famille ayant résidé dans le Punjab dans laquelle 3 enfants furent atteints de boutons après leur père ; chez les 4 malades, les boutons siégeaient à la face (2).

Yakimoff, au Turkestan, a observé souvent plusieurs cas de boutons d'Orient dans une même famille : la mère et 2 enfants dans un cas, tous les membres d'une famille dans un autre cas (3).

La contagion paraît pouvoir se faire au moyen de linge servant en commun à des personnes atteintes du bouton et à des personnes saines.

Weber (*op. cit.*) cite le fait d'un pharmacien de l'hôpital militaire de Biskra qui, après avoir été se baigner aux eaux chaudes avec un de ses amis atteint de boutons d'Orient, et s'être servi de la même serviette, contracta la maladie à une époque où elle ne régnait plus.

Laveran (*op. cit.*) a cité un cas semblable qui se résume comme il suit :

« Marie Gros, âgée de douze ans et demi, arrivée à Biskra, le 15 septembre 1878, venant de Constantine, a eu les fièvres intermittentes à Constantine; anémie consécutive. Marie Gros est la sœur de la femme du concierge de l'hôpital militaire, elle emploie pour se laver et pour s'essuyer la figure, les

(1) A. Laveran, *Ann. de dermat. et de syphiligr.*, 1880. 2e série, t. I, p. 173.
(2) J.-G. Tomkinson, *Brit. med. Journ.*, 10 octobre 1914.
(3) W.-L. Yakimoff, *Soc. de path. exotique*, 21 juillet 1915.

mêmes serviettes que sa sœur, laquelle porte sur différents points du corps, et notamment à la face, de nombreux boutons de Biskra recouverts de croûtes. Dès la fin du mois d'octobre, Marie Gros est atteinte de boutons endémiques qui se développent lentement et sans douleur sur les joues et sur les parties latérales du front d'abord, puis sur les avant-bras.

« Au mois de novembre, époque à laquelle nous examinons la malade, les boutons de la face et des avant-bras ont un aspect caractéristique; ils ont la forme de plaques recouvertes au centre d'une croûte grisâtre, épaisse, saillante, très sèche et très adhérente, avec des croûtes accessoires autour de la première. »

Brault, à Alger, a observé un bouton d'Orient chez une dame âgée, européenne, qui avait vu la dermatose se développer à la suite d'un bain pris dans un établissement public; elle s'était essuyée avec un linge un peu douteux (1).

Boigey (*op. cit.*) cite le cas de 4 enfants d'un médecin de Biskra atteints de boutons après avoir utilisé du linge lavé par des indigènes atteints de boutons siégeant aux mains.

C'est un fait avéré, très intéressant au point de vue de l'étude qui nous occupe, que le bouton d'Orient se développe souvent sur des excoriations ou sur d'autres lésions cutanées.

Ce fait est si frappant que, dans le premier travail publié sur le bouton de Biskra, il en est fait mention : « La moindre écorchure, écrit Poggioli, la plus petite piqûre (nos soldats y étaient assez exposés en abattant des palmiers) devenaient immédiatement le siège de la maladie » (2).

Tous les boutons d'acné ou autres que l'on déchire par des frottements manuels se transforment, dit Alix, en clous de Biskra (3).

Sériziat a pu soutenir que les boutons de Biskra avaient toujours pour point de départ des écorchures de la peau; il a vu de ces boutons qui avaient incontestablement pour origine des piqûres de moustiques (4).

La propagation du clou de Biskra semble se faire, écrit Weber, par l'inoculation de points excoriés (5).

La gale bédouine précède souvent, en Algérie, l'apparition des boutons d'Orient (Beylot, Sériziat, etc...).

(1) J. Brault, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1899, 3e série, t. X, p. 85.
(2) P.-J. Poggioli, Thèse inaugurale, Paris, 1847, p. 15.
(3) Alix, *Rec. mém. de méd. militaire*, février 1870.
(4) Sériziat, *Études sur l'oasis de Biskra*, 1875, p. 112.
(5) Weber, *Rec. mém. de méd. militaire*, 1876.

Laveran (*op. cit.*) a vu. à Biskra, des boutons qui s'étaient greffés sur des pustules d'acné ou d'impetigo, sur des plaies consécutives à des brûlures ou à l'application de vésicatoires, enfin sur des pustules vaccinales, comme en témoignent les observations suivantes.

1° « Simon, soldat au 3e bataillon d'Afrique, est revacciné le 29 novembre 1878 à l'hôpital militaire de Biskra. La revaccination est faite de bras à bras: l'enfant qui sert de vaccinifère ne porte pas trace d'éruption à la surface du corps. Huit jours après la revaccination, nous constatons qu'il existe trois belles pustules vaccinales. Les jours suivants, ces pustules s'enflamment et se recouvrent de croûtes. Le 7 janvier 1879, nous revoyons le malade et nous constatons qu'il existe trois boutons de Biskra bien caractérisés à l'endroit même où siégeaient les pustules vaccinales. En dehors des pustules, on trouve sur le bras un quatrième bouton. Antérieurement, le malade n'avait jamais eu d'éruption de ce genre. »

2° « Prieur, soldat au 3e bataillon d'Afrique, est revacciné le 29 novembre 1878 à l'hôpital militaire de Biskra: la revaccination est faite de bras à bras; l'enfant qui sert de vaccinifère ne porte pas trace d'éruption à la surface du corps. Huit jours après la revaccination, nous voyons le malade pour constater le résultat de l'opération et nous inscrivons sur le registre des vaccinations : *succès incertain*. Le 7 janvier 1879, nous avons l'occasion d'examiner de nouveau le malade, il existe au niveau d'une des piqûres vaccinales un clou de Biskra très bien caractérisé. Prieur n'avait eu antérieurement aucune éruption de ce genre. »

Au sujet de ces cas, Laveran fait remarquer qu'à Biskra on fera bien, à moins d'épidémie variolique menaçante, de pratiquer les vaccinations et revaccinations en dehors de la période endémique du bouton.

Hussenet signale que le bouton de Gafsa se développe facilement sur les plaies; la plaie devient ulcéreuse en s'entourant d'un bourrelet inflammatoire et d'un cercle de nodules (1).

Moty constate que le bouton de Biskra qui se greffe souvent sur de simples écorchures de la peau ne complique jamais les plaies d'une certaine étendue recouvertes de bourgeons charnus, alors même qu'elles sont assez mal protégées par les pansements (2).

« A l'époque favorable au développement du bouton d'Orient écrit Jeanselme, toute solution de continuité des téguments est

(1) Hussenet, cité par Depéret et Boinet, *Arch. de méd. militaire*, 1884, t. III, p. 328.
(2) Moty, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1893, 3e série, t. IV, p. 371.

une porte d'entrée pour la maladie; les ulcérations se développent également sur les petites plaies, les boutons d'acné, les éléments d'impetigo, les pustules vaccinales » (1).

Boigey a fait l'expérience suivante : des croûtes de bouton d'Orient ont été appliquées sur la peau saine chez 6 sujets et maintenues en place pendant 3 jours avec résultats négatifs; au contraire, chez 4 indigènes excoriés aux jambes, l'application des croûtes, au niveau des excoriations, a donné naissance à des boutons (2). Une solution de continuité de l'épiderme paraît nécessaire, dit Boigey, pour que le bouton puisse éclore.

Le Dr Bussière a vu le bouton d'Orient se développer sur des plaies banales de deux de ses serviteurs, plaies contractées en travaillant dans le port de Bender-Bouchir (3).

Le Dr Ufferte, ayant séjourné quarante-huit heures à Gafsa au mois de septembre 1911, alors qu'il avait des excoriations aux mains, fut atteint quinze jours après de boutons verruqueux au niveau des excoriations (4).

Mantegazza a constaté le développement du bouton sur une plaie du front chez un soldat revenant de Libye (5).

Mantovani, à Ravenne, a observé un cas de leishmaniose cutanée, chez un homme de soixante-six ans, à la suite d'une blessure du pied mal soignée (6).

Le bouton d'Orient peut être importé en dehors de ses foyers ordinaires; si les conditions climatiques sont défavorables, la maladie disparaît rapidement; si elles sont favorables, de nouveaux foyers d'endémicité sont créés.

D'après Cardamatis, le bouton d'Orient a été introduit en Crète en 1836 par des soldats ottomans, originaires de cette île, qui avaient contracté le mal en Syrie, pendant la campagne contre les Druses (7).

Depéret et Boinet rapportent qu'un bataillon du 38e régiment d'infanterie, envoyé en Tunisie en 1881, rentra en 1883,

(1) Jeanselme. *Cours de dermatologie exotique*. Paris, 1904, p. 213.
(2) Boigey, *Arch. gén. de médecine*, 1907, t. I, p. 614.
(3) Bussière, cité par Mohammed Loghman, Thèse inaug., Paris, 1908.
(4) L. Ufferte et J. Pellier, *Ann. de dermat. et de syphil.*, juin 1913.
(5) Mantegazza. *Malaria e malattie dei paesi caldi*, 20 juin 1914.
(6) M. Mantovani, *Pathologica*, 1er février 1915.
(7) J.-P. Cardamatis, *Soc. de path. exotique*, 12 mai 1909.

au camp de Sathonay, près de Lyon, et que 25 cas de boutons d'Orient furent constatés à l'arrivée. Non seulement de nouveaux cas se développèrent à Sathonay chez des hommes qui avaient été en Tunisie, ce qui peut s'expliquer par la longueur de l'incubation, mais un homme qui n'avait été ni en Tunisie, ni en Algérie, fut atteint, ainsi qu'un infirmier chargé spécialement de donner des soins aux malades porteurs de boutons de Gafsa (1).

M. Nicolle et Noury-Bey écrivent, au sujet du bouton d'Alep : « L'affection semble contagieuse de l'homme à l'homme; des personnes d'Alep ont parfois transporté le mal dans des régions de l'Asie-Mineure où il était inconnu » (2).

En Afrique, les foyers endémiques du bouton sont moins exactement circonscrits qu'on ne le croyait naguère; des cas isolés ont été observés à Alger par Brault, dans la vallée du Sebaou par Gros, à Flatters (Tell Algérien) par Cambillet, dans la région de Zinder par Stévenel, près du lac Tchad par Benoit-Gonin, au Niger par Wagon, dans le Sud marocain (Haut-Guir) par Foley, Vialatte et Adde (3).

Je rappellerai enfin que des cas assez nombreux de boutons d'Orient ont été signalés, dans ces dernières années, en Italie méridionale, en Sicile et en Grèce (4).

Il est bien certain que la maladie, lorsqu'elle s'était produite en dehors de ses foyers, a été souvent méconnue; aujourd'hui, le diagnostic de la leishmaniose cutanée étant devenu facile, il est probable que les faits d'importation en dehors des foyers endémiques iront en se multipliant.

III. Rôle de certains insectes, de la mouche domestique notamment, dans la propagation du bouton d'Orient. — Le fait que le bouton d'Orient se développe d'ordinaire sur les parties du corps non protégées ou mal protégées par les vêtements

(1) Depéret et Boinet, *Arch. de méd. militaire*, 1884, t. III, p. 296.

(2) M. Nicolle et Noury-Bey, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897, t. XI, p. 777.

(3) Brault, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1899. — Gros, *Soc. de path. exotique*, 9 juin 1909. — Cambillet, *même Société*, 21 juillet 1909. — Stévenel, *même Société*, 12 avril 1911. — Wagon, *même Société*, 12 novembre 1913. — Foley, Vialatte et Adde, *même Société*, 11 février 1914.

(4) Fr. Lacava, *Malaria e malattie dei paesi caldi*, 1913, t. IV, p. 352. — P. Cardamatis, *Soc. de path. exotique*, 12 mai et 21 juillet 1909.

semble indiquer, ainsi que bon nombre d'observateurs l'ont fait remarquer déjà, que le virus est propagé par un insecte ailé. Les puces, les poux de corps et les punaises piquent plus souvent le tronc et la racine des membres que la face et les extrémités des membres, qui sont les lieux d'élection du bouton.

Punaises. — Les punaises ont été cependant incriminées; Patton a fait de nombreuses et très patientes recherches avec *Cimex rotundatus*, punaise très commune aux Indes (1).

Patton a élevé, à Madras, un grand nombre de punaises (trois générations) et il les a emportées à Cambay, foyer endémique du bouton d'Orient. Là, les punaises ont été nourries en juin, juillet et août sur un sujet atteint de bouton d'Orient, les unes à proximité, les autres sur un point éloigné du bouton. Les punaises refusent de se nourrir sur les boutons ulcérés et leur trompe est trop courte pour qu'elles puissent atteindre, sur les bords des ulcères, les zones profondes, riches en parasites; elles se nourrissent donc de sang périphérique, et l'existence de *Leishmania tropica* dans la grande circulation est tout à fait exceptionnelle. Parmi les punaises nourries sur le sujet atteint de bouton, les unes ont été sacrifiées à différentes époques, dans le but de constater si elles s'étaient infectées et si la *Leishmania* se transformait dans leur tube digestif; les autres, transportées à Bombay, ont servi à des essais d'infection de l'homme.

Sur 250 punaises examinées dans une première expérience, des *Leishmania* d'aspect normal ont été trouvées très rarement; il n'y avait aucune forme flagellée.

Une enquête ayant montré que 95 p. 100 des boutons étaient contractés à Cambay pendant la saison froide, Patton résolut (on était alors au mois de juillet) de maintenir les punaises en expérience à une température de 23 à 25 degrés centigrades. A cet effet, les punaises, dans l'intervalle des sucées de sang, furent placées dans une petite boîte en fer-blanc entourée de glace. Le 8 août, en disséquant une nymphe, Patton trouva, dans l'estomac, des flagellés en petit nombre, ayant tous les caractères des formes de culture de la *L. tropica*. Il ne peut y

(1) W.-S. Patton, *Scientif. mem. by Offic. of the med. a. sanit. Dep. of the Gov. of India*, new series, nº 50, 1912.

avoir, écrit Patton, aucun doute sur l'origine de ces flagellés, la punaise provenait de l'élevage de Madras; d'ailleurs, sur plus de 2.000 punaises provenant de différentes régions de l'Inde, aucune n'a été trouvée infectée naturellement de flagellés.

Patton ayant réussi à s'inoculer le bouton de Cambay (par inoculation sous-cutanée sur un sujet infecté naturellement) a répété l'expérience précédente à Madras, il a constaté que chez les punaises adultes, conservées à la température de 22 à 25 degrés centigrades, qui ont ingéré des *Leishmania*, les parasites se transforment en flagellés, mais que ces derniers sont toujours rares; ils ne forment pas de rosaces; d'autre part, les flagellés n'existent que dans l'estomac des punaises, on n'en trouve ni dans le rectum ni dans les glandes salivaires.

Les essais d'infection de l'homme à l'aide de punaises ayant sucé le sang d'un malade atteint de bouton faits à plusieurs reprises, à Bombay, sur des sujets n'ayant jamais eu le bouton, et avec un grand nombre de punaises, ont donné des résultats négatifs, néanmoins Patton croit pouvoir conclure de ses recherches que *Cimex rotundatus* est, à Cambay, le seul insecte transmetteur du bouton.

Schneider rapporte ce qui suit : une dame habitant aux environs de Téhéran est réveillée une nuit par une piqûre d'insecte à la joue, elle porte la main à l'endroit piqué et saisit une punaise; *peu de temps après*, elle est atteinte d'un bouton d'Orient qui siège exactement au point piqué par la punaise. L'année précédente, quatre enfants avaient été atteints de boutons dans le même logis connu comme infesté de punaises (1).

Patton cite, d'après miss Porter, le fait suivant : une jeune fille recueillie, à la suite d'un incendie, dans une maison de Bangalore habitée par des indigènes, trouve pendant la nuit une punaise qui piquait son avant-bras gauche; trois mois après, un bouton d'Orient se développe au point piqué. Le bouton n'est pas endémique à Bangalore, mais la famille indigène arrivait de Cambay.

D'après le lieutenant-colonel Ashton Street (2), un officier

(1) J.-E.-J. Schneider, *Soc. de path. exotique*, 10 février 1909, *Bulletin*, t. II, p. 91.
(2) Cité par Patton, *op. cit.*

eut plusieurs boutons à Karachi *peu de jours après* avoir été piqué par des punaises dans l'hôtel où il était descendu.

Ces faits ne fournissent évidemment qu'un bien faible appui à l'opinion émise par Patton. Dans deux des observations l'incubation a été d'une brièveté anormale.

Wenyon a institué, à Bagdad, des expériences sur le rôle des punaises (*Cimex lectularius*) dans la transmission du bouton d'Orient; bien que les punaises soient très rares à Bagdad, Wenyon a réussi à s'en procurer un certain nombre qu'il a nourries sur des boutons. De 12 punaises ayant piqué une seule fois, 2 furent disséquées 24 heures après la sucée infectante, 8 au bout de 48 heures, et les deux dernières au bout de 72 heures. Des formes de développement des *Leishmania* furent trouvées dans une des punaises sacrifiées au bout de 24 heures, et dans trois de celles sacrifiées au bout de 48 heures.

Quatre jeunes punaises, écloses au laboratoire et nourries sur des boutons, furent disséquées avec résultat négatif au point de vue de l'existence de *Leishmania* (1).

Sur 72 punaises provenant de la prison qui furent disséquées, aucune n'était infectée par des flagellés.

D'après Wenyon, les flagellés trouvés dans quelques punaises nourries sur des boutons sont très probablement des formes de culture de *L. tropica*; la culture se produit dans l'estomac de la punaise comme elle se produirait *in vitro*, mais elle avorte bientôt. Cette interprétation est d'accord avec ce fait, signalé par Patton, que la transformation des *Leishmania* dans les punaises ne se fait pas à une température supérieure à 25 degrés, ce qui a été noté aussi pour les cultures.

Schokhor s'est fait piquer, au Turkestan, à deux reprises, par des punaises nourries sur la main d'un malade au voisinage d'un ulcère à *Leishmania* (2); le résultat de l'expérience a été complètement négatif, négatif aussi l'examen du contenu du tube digestif des punaises ayant servi à l'expérience.

Yakimoff et Schokhor ont examiné, également sans succès, le contenu du tube digestif de punaises recueillies dans les lits

(1) C.-M. Wenyon, *Parasitology*, octobre 1911, t. IV, p. 273-344 et *Journ. London School trop. med.*, décembre 1912.

(2) W.-L. Yakimoff, *Soc. de path. exotique*, 21 juillet 1915, *Bulletin*, t. VIII, p. 498.

de malades atteints de boutons d'Orient; nous ignorons quelle était la température extérieure au moment où ces recherches ont été faites.

Puces. — Wenyon (*op. cit.*) a essayé d'infecter *Pulex irritans* et *Ctenocephalus canis* en faisant piquer des puces sélectionnées sur des boutons d'Orient; il n'a obtenu aucune évolution des *Leishmania* dans le tube digestif de ces insectes. La fréquence des infections naturelles des puces par des flagellés constitue, pour ces expériences, une cause d'erreur, mais l'examen des excreta des puces permet de constater l'infection (méthode de Nöller), et d'éliminer les insectes parasités.

Poux. — Patton a fait sur des poux (*Pediculus vestimenti* et *P. capitis*) les recherches suivantes. Des poux, capturés à l'état adulte ou provenant d'élevages, ont été nourris à la partie marginale de boutons d'Orient ulcérés. Les insectes ont été ensuite disséqués à intervalles variés. Le tube digestif, les glandes salivaires et les autres organes, examinés à l'état frais ou sur frottis colorés, n'ont jamais montré de *Leishmania* normales ou modifiées. Les poux ne sont donc pas, dit Patton, les hôtes invertébrés du parasite du bouton. L'observation confirme ce résultat expérimental : les Indiens de la caste supérieure qui se lavent tous les jours, changent souvent de vêtements et n'ont presque jamais de poux, sont atteints de bouton aussi souvent que les gens du peuple qui se lavent très rarement, et sont couverts de vermine; des Européens qui ne peuvent pas être soupçonnés d'avoir des poux ne sont pas épargnés.

Parmi les insectes ailés suceurs de sang, on a incriminé principalement les moustiques, les simulies, les phlébotomes et certaines mouches piquantes.

Moustiques. — On a vu plus haut que, dès 1875, Sériziat déclarait avoir vu des boutons de Biskra ayant incontestablement pour origine des piqûres de moustiques.

Schulgin croyait que les moustiques étaient les agents de transmission du bouton d'Orient (1).

Ed. et Et. Sergent, ayant trouvé à Biskra un moustique nouveau : *Grabhamia subtilis* (2), ont recherché si cet insecte pouvait

(1) K.-J. Schulgin, *Russkii Vratch*, 1902, nos 32 et 33.
(2) Ed. et Et. Sergent, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 8 avril 1905.

propager le bouton; ils se sont fait piquer aux mains et aux avant-bras par un certain nombre de *G. subtilis*, en protégeant le mieux possible le reste du corps; l'expérience a été faite à Biskra, au mois de septembre 1904, époque à laquelle les boutons n'étaient pas rares; le résultat fut négatif.

Billet cite le fait d'une dame habitant Ismaïlia qui, piquée par un moustique sur un sein, au moment où elle allaitait son enfant, vit survenir, *quelques jours après*, un bouton d'Orient juste à l'endroit de la piqûre (1). L'incubation aurait été dans ce cas très courte. Billet rappelle que *Anopheles Chaudoyei*, dont la présence a été constatée à Ismaïlia, est commun en Algérie dans les foyers d'endémicité du bouton, et il émet l'opinion que peut-être ce culicide est l'agent de transmission de la maladie.

Wenyon a procédé, à Bagdad, à de nombreuses expériences sur *Culex fatigans* et *Stegomyia fasciata* (*op. cit.*).

De 31 *C. fatigans* nourris sur des boutons, et disséqués 24, 48 et 72 heures après la sucée de sang, aucun ne montra trace d'infection par *L. tropica*.

Les *Stegomyia* piquèrent beaucoup plus facilement que les *C. fatigans*, ce qui permit de multiplier les expériences et de nourrir ces moustiques toutes les 24 heures sur les boutons. Chez 10 p. 100 des insectes, des *Leishmania* furent trouvées dans le tube digestif immédiatement après la sucée. Dans un *Stegomyia* nourri à deux reprises sur un bouton, et disséqué 24 heures après la dernière sucée, on trouva des formes arrondies ressemblant aux formes des cultures récentes de *L. tropica*. Dans 5 autres *Stegomyia*, nourris de 4 à 10 fois sur bouton, et disséqués 24 à 48 heures après la dernière sucée, il existait des formes flagellées. 80 *Stegomyia* en tout ont été nourris de 5 à 10 fois sur des boutons. 6 douzaines de *Stegomyia* ont été nourris une ou plusieurs fois sur des hommes sains, et chez aucun de ces moustiques, la dissection n'a révélé l'existence de flagellés. Wenyon estime que les flagellés trouvés chez quelques-uns des moustiques nourris sur des boutons sont très probablement des formes de développement des *Leishmania*. Chez les moustiques nourris avec des

(1) A. Billet, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 30 juin 1906.

cultures de *L. tropica*, les parasites disparaissent rapidement.

26 *Stegomyia* nourris de 1 à 10 fois sur un bouton ont été ensuite nourris sur un bras de Wenyon; le résultat a été entièrement négatif; chez deux des moustiques ayant servi à cette expérience, l'existence de flagellés fut constatée.

A Cambay (Inde), un *Stegomyia* sp. est très commun toute l'année; il est très vorace, et pique souvent à travers les vêtements. Un grand nombre de moustiques de cette espèce, nés au laboratoire, furent nourris les uns à la marge d'un bouton, les autres à une certaine distance. Examinés à des intervalles réguliers, ces moustiques ne montrèrent pas trace de *Leishmania*; ils n'étaient pas infectés naturellement d'*Herpetomonas*. Il ne semble pas, dit Patton, que ce *Stegomyia* soit l'agent de transmission de *L. tropica* (1).

Yakimoff au Turkestan (*op. cit.*) a examiné le tube digestif de 160 *Anopheles* ou *Culex* capturés au voisinage de sujets atteints de bouton et chez aucun il n'a trouvé de *Leishmania*.

Simulies. — Fink a appelé l'attention sur le rôle possible des simulies dans la propagation du bouton d'Orient, sans fournir, d'ailleurs, aucune preuve à l'appui de cette hypothèse (2). La piqûre des simulies qui est douloureuse, irritante, suivie de l'apparition d'une papule, passerait difficilement inaperçue.

Phlébotomes. — En 1905, Pressat signale un petit diptère qui semble jouer, dit-il, un rôle important dans la propagation du bouton d'Orient; le nom de l'insecte n'est pas donné, mais les caractères que lui assigne l'auteur et le dessin qu'il en donne ne permettent pas de méconnaître un phlébotome (3).

En 1904, Ed. et Et. Sergent se sont fait piquer, à Biskra, par une quinzaine de phlébotomes, sans résultat; Ed. et Et. Sergent, G. Lemaire et G. Sénevet, dans un travail publié en 1915 (4), constatent les résultats négatifs de nouvelles expériences,

(1) W.-S. PATTON, *op. cit.*

(2) G.-H. FINK, *Brit. med. Journ.*, 1909, t. II, p. 822.

(3) A. PRESSAT, *Le paludisme et les moustiques*, 1905, planche III. — ED. SERGENT, *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1905, t. III, p. 626.

(4) ED. et ET. SERGENT, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 8 avril 1905. — ED. et ET. SERGENT, G. LEMAIRE et G. SÉNEVET, *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1915.

faites également à Biskra, avec le *Phlebotomus minutus africanus*; les piqûres des phlébotomes et l'inoculation sur la peau abrasée, ou sous la peau, du liquide obtenu par leur broyage, pratiquée chez l'homme, chez le singe ou chez la souris, n'ont donné que des insuccès; nous reviendrons sur ces recherches à propos de la question de l'existence d'un hôte intermédiaire de la *L. tropica*.

Patton à Cambay (*op. cit.*) a trouvé, pendant la saison des pluies, un *Phlebotomus* sp.; il fut piqué, sans résultat, par quelques-unes de ces mouches. Quatre phlébotomes pris dans l'hôpital furent disséqués avec résultat négatif. Pendant la saison froide, ces phlébotomes sont introuvables à Cambay, d'après Patton, et c'est pendant cette saison qu'on contracte le plus souvent le bouton.

Hippobosques. — Gachet a constaté, à Téhéran, que les chiens, souvent atteints de leishmaniose cutanée, sont pour la plupart, porteurs de *Hippobosca canina*, et il a supposé que ce diptère piquant jouait un rôle dans la transmission du bouton d'Orient connu en Perse sous le nom de *salek* (1). Gachet a examiné des hippobosques qui venaient de se gorger de sang sur une ulcération des naseaux et de la joue d'un chien et il a constaté l'existence de *Leishmania*; le même observateur rapporte que deux personnes contractèrent le bouton après avoir été piquées par *H. canina*.

Dans beaucoup de régions où le bouton est endémique, la leishmaniose cutanée du chien est inconnue et l'existence de *Hippobosca canina* n'a pas été signalée, le mode de transmission du bouton indiqué par Gachet serait donc spécial à la Perse et peut-être à quelques contrées voisines. Il est possible que le grand nombre des *H. canina*, à Téhéran, soit la cause de la fréquence insolite de la leishmaniose cutanée du chien.

Stomoxes. — Wenyon (*op. cit.*) a constaté quelquefois l'existence de *Leishmania* dans le tube digestif de stomoxes nourris sur des boutons; dans aucun cas une évolution des parasites n'a été notée.

On voit que le rôle des insectes piquants incriminés comme propagateurs du bouton d'Orient est loin d'être avéré; il se

(1) Gachet, *Bull. de l'Acad. de Médecine*, 20 avril 1915.

peut, toutefois, que ces insectes aient un rôle indirect : leurs piqûres irritantes provoquent des démangeaisons souvent très vives, suivies de grattage et d'égratignures de l'épiderme qui peuvent servir de portes d'entrée au virus convoyé par les mouches domestiques dont il me reste à parler (1).

Mouches domestiques. — Ces mouches, si dangereuses au point de vue de la propagation de la fièvre typhoïde, de la dysenterie, du choléra et de la tuberculose, paraissent jouer aussi un rôle important dans la propagation du bouton d'Orient.

En 1880, j'écrivais : « Nous avons vu qu'aux mois de septembre et d'octobre les moindres plaies avaient de la tendance à se transformer en boutons endémiques ; or, à cette époque, les mouches abondent à Biskra, et elles se groupent avec acharnement autour des moindres écorchures ; il ne nous semble pas douteux que les mouches puissent transporter, au bout de leurs pattes ou de leurs suçoirs, le principe actif du bouton (2). »

Des boutons se produisent encore en hiver, alors que les mouches sont, à Biskra, beaucoup moins nombreuses et moins actives qu'en automne, mais il faut tenir compte de ce fait que l'incubation est souvent de 2 à 3 mois, parfois plus longue encore.

Les mouches, dit Carter, peuvent propager l'infection à des érosions de la peau, le bouton d'Orient paraît exercer sur elles une fascination particulière, des essaims de mouches domestiques tourmentent sans cesse les malades atteints de boutons ulcérés. D'après le même observateur, les flagellés des cultures de *L. tropica*, quand ils sont absorbés par *Musca domestica*, peuvent vivre au moins 48 heures dans le tube digestif (3).

(1) Je suis arrivé à la même conclusion en ce qui concerne le rôle des insectes piquants dans la propagation de la leishmaniose américaine (*Soc. de path. exotique*, 9 juin 1915, *Bulletin*, t. VIII, p. 388).

(2) A. Laveran, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1880, 2e série, t. I, p. 194. — Castellani et Chalmers et Patton citent Sériziat comme ayant signalé, dès 1875, le rôle de la mouche domestique dans la transmission du bouton d'Orient ; j'ai relu le chapitre que Sériziat a consacré à l'ulcère saharien dans ses Études sur l'oasis de Biskra et j'ai constaté qu'il n'y était pas question des mouches ; d'ailleurs Sériziat pensait que l'ulcère saharien était la résultante d'une cachexie produite par le climat saharien, il ne supposait donc pas qu'il existât un microbe spécifique susceptible d'être propagé par les mouches.

(3) R.-M. Carter, *Brit. med. Journ.*, 11 septembre et 6 novembre 1909.

Nous allons voir que plusieurs observateurs se sont préoccupés, comme Carter, de savoir si la *L. tropica* pouvait traverser à l'état vivant le tube digestif de la mouche domestique qui, dans l'affirmative, serait infectieuse, non seulement en transportant mécaniquement des germes, mais aussi en hébergeant des *Leishmania* qui, éliminées dans les fèces, et déposées à la surface d'érosions cutanées, seraient capables de produire des boutons.

A Cambay, dit Row, le bouton règne à la fin de la saison des pluies et, l'incubation étant de 2 mois environ chez l'homme, l'infection se produit le plus souvent pendant la mousson, alors que les mouches abondent. L'exsudat des boutons constitue une grande attraction pour la mouche domestique, de telle sorte qu'il n'est pas rare de voir des malades dont les boutons sont assiégés par des essaims de mouches ; étant donné que l'exsudat des ulcérations est riche en parasites, et que les mouches se souillent avec cet exsudat et se posent ensuite sur d'autres personnes, il est admissible que la *Leishmania* puisse être transportée par elles, soit avec leurs pattes, soit plutôt avec les fèces, et qu'une écorchure ou égratignure accidentelle serve de porte d'entrée. Row admet que les parasites du bouton peuvent subir le cycle entier de développement en flagellés dans le tube digestif de la mouche (1).

Wenyon a constaté (*op. cit.*) à Bagdad que, chez les mouches domestiques qui viennent d'être nourries sur un bouton ulcéré, il est facile de trouver des *Leishmania* dans le tube digestif ; au bout de 5 heures, les parasites ont disparu. Dans une série d'expériences, des mouches furent nourries sur un bouton ulcéré à des intervalles de 24 heures, les unes une seule fois, les autres jusqu'à 10 fois ; les mouches étaient conservées à des températures variées ; l'examen du tube digestif était fait 24 heures après la dernière sucée. Dans tous les cas, les résultats furent négatifs au point de vue du développement des *Leishmania*. L'examen des fèces des mouches nourries sur des boutons fut aussi négatif. Des expériences faites en nourrissant les mouches avec des cultures de *L. tropica* montrèrent que les parasites disparaissaient rapidement.

(1) R. Row, *Brit. med. Journ.*, 24 septembre 1910.

Wenyon pense que la mouche domestique est quelquefois l'agent de transmission du bouton, mais que l'agent ordinaire est probablement un moustique ou un phlébotome; il n'a pas expérimenté sur les phlébotomes.

Cardamatis et Melissidis ont fait sucer par 8 mouches domestiques le produit d'excrétion de boutons d'Orient contenant des *Leishmania*; les mouches conservées dans un flacon, et nourries, ont été sacrifiées de 78 heures à 9 jours après la première sucée. Les résultats des examens des mouches ont été positifs dans 2 cas, négatifs dans les 6 autres. Les mouches chez lesquelles des *Leishmania* en assez grand nombre ont été trouvées avaient été sacrifiées le 3e et le 5e jour après la sucée. Les auteurs concluent que la *L. tropica* peut vivre, pendant 6 jours au moins, dans le tube digestif des mouches et s'y développer, et que les fèces des mouches parasitées, mises en contact avec des excoriations de la peau, peuvent probablement produire le bouton d'Orient (1). Les auteurs ne disent pas comment ils se sont mis à l'abri de la cause d'erreur provenant de la présence fréquente dans les mouches d'*Herpetomonas* pouvant être confondus avec des *Leishmania* à certains stades de leur évolution.

Patton (*op. cit.*) a fait, à Cambay (Inde), de nombreuses expériences sur *Musca nebulo* (2), et *Musca* sp. dans le but de rechercher si ces diptères pouvaient convoyer le germe du bouton d'Orient. Des écorchures et abrasions furent pratiquées sur la main gauche de Patton, après quoi des mouches qui avaient sucé le produit d'excrétion d'un bouton ulcéré furent déposées, à plusieurs reprises, sur la main et se nourrirent de la sérosité qui suintait. Le résultat de cet essai d'inoculation fut négatif; Patton en conclut que la mouche domestique ne peut pas transporter mécaniquement le germe du bouton, ce qui me paraît être une conclusion trop générale pour une expérience unique; Patton convient d'ailleurs que les faits indiscutables d'auto-réinoculation par grattage, chez des sujets

(1) J.-P. Cardamatis et A. Melissidis, *Société de path. exotique*, 12 juillet 1911.

(2) Patton ne dit pas à quelle époque cette expérience a été faite; on a vu plus haut qu'il s'est inoculé avec succès le bouton d'Orient (par inoculation sous-cutanée) le 24 décembre 1910. *Musca nebulo*, qui diffère très peu de *M. domestica*, est la mouche de maison la plus commune dans l'Inde méridionale.

atteints du bouton d'Orient, sont en faveur de la transmission mécanique par les mouches.

Un grand nombre de mouches provenant de larves, nourries au laboratoire, et ayant sucé le produit d'excrétion de boutons ulcérés ont été disséquées par Patton. L'examen des différentes portions du tube digestif a montré que des *Leishmania* pouvaient être trouvées, dans l'intestin moyen, seulement pendant les 6 premières heures qui suivaient la sucée; après ce temps, les parasites dégénèrent et disparaissent. Jamais aucun parasite n'a été vu dans la dernière portion du tube digestif. Patton conclut que les *Leishmania* ne se développent pas dans le tube digestif des mouches et que, par conséquent, l'infection ne peut pas être propagée par les fèces de ces insectes.

Martoglio a publié trois cas de boutons d'Orient chez des Abyssins; dans les trois cas, le bouton s'était greffé sur des lésions cutanées; les mouches domestiques qui abondent en Abyssinie jouent probablement, dit Martoglio, un rôle dans la transmission de la maladie (1).

Il me semble indiscutable que des mouches qui ont séjourné sur des boutons d'Orient ulcérés, et qui ont souillé leurs pattes et leurs trompes avec les produits d'excrétion, peuvent transporter mécaniquement des *Leishmania*, de même que les sujets atteints de bouton les transportent avec leurs ongles. J'ai fait, le 31 juillet 1915, l'expérience suivante.

Une quarantaine de mouches domestiques capturées à Paris, à l'Institut Pasteur, indemnes d'*Herpetomonas,* sont nourries avec le produit du broyage d'une tumeur à *Leishmania* d'une souris. Au bout de 30 minutes, 3 des mouches servent à faire des frottis sur des lames porte-objet enduites d'une légère couche d'albumine glycérine; les mouches intactes sont frottées légèrement par la partie ventrale, de manière à ce que les extrémités des pattes et la trompe portent sur la lame de verre, le frottis est ensuite fixé et coloré au Romanowsky. Deux des frottis contiennent des *Leishmania*; l'examen du troisième frottis est négatif. Le 1er août, je dissèque 4 mouches ayant pris part à l'expérience et je ne trouve aucune *Leishmania* dans le tube digestif.

(1) F. Martoglio, Il bottone orientale in Abissinia, extrait du volume publié en l'honneur du professeur Celli, 1912.

Les mouches auxquelles adhèrent des *Leishmania* sont incapables d'inoculer ces microbes, mais elles peuvent évidemment les déposer sur les plaies ou les écorchures qu'elles visitent après s'être souillées, et l'observation nous apprend qu'en effet le bouton d'Orient se greffe souvent sur les lésions légères de la peau consécutives, par exemple, aux piqûres des moustiques et au grattage qu'elles provoquent.

IV. Des animaux servent-ils de réservoirs au virus du bouton d'Orient? — La leishmaniose cutanée se rencontre à l'état d'infection naturelle chez le chien, mais avec une fréquence très variable suivant les régions. Cette dermatose signalée, dès 1854, par Willemin chez 2 chiens à Alep, est si répandue à Téhéran que, sur 21 chiens pris au hasard dans une des rues les plus fréquentées, 15 étaient porteurs d'ulcérations à *Leishmania* (Gachet, *op. cit.*). On conçoit que, dans ces conditions, les chiens puissent servir au virus de réservoir et jouer un grand rôle dans la propagation du bouton d'Orient, d'autant que leurs ulcérations, non pansées, se prêtent mieux que celles de l'homme à la diffusion des germes. Mais cette grande fréquence de la leishmaniose cutanée du chien est exceptionnelle. Au Turkestan (von Petersen et Yakimoff) et au Caucase (Marzinowsky), la maladie existe mais elle est rare (1); dans les foyers endémiques de l'Afrique du Nord et de l'Inde, elle n'a pas été notée jusqu'ici; le rôle du chien dans la propagation de la *L. tropica* est donc très limité. Plusieurs observateurs ont signalé le chameau comme sujet au bouton d'Orient, nous ne savons rien de précis à cet égard.

On a vu plus haut que, dès 1905, Ed. et Et. Sergent avaient incriminé les phlébotomes; comme il a été établi que ces diptères se nourrissaient le plus souvent sur des lacertiens et en particulier sur le gecko ou tarente (2), ces observateurs ont été conduits à faire des recherches sur la tarente considérée comme réservoir du virus du bouton d'Orient (3).

(1) Von Petersen, *Arch. für Dermat. und Syphil.*, 1914. — W.-L. Yakimoff, *op. cit.* — Marzinowsky, *Zeitschr. für Hyg. und Infectionskr.*, 1907.

(2) Howlett, *Indian Journal of. med. Research*, juillet 1913. — E. Roubaud, *Soc. de path. exotique*, 14 janvier 1914.

(3) Ed. et Et. Sergent, G. Lemaire et G. Sénevet, *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914 et *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1915.

L'ensemencement, en milieu de Novy simplifié, du sang et du suc hépatique de 229 tarentes (*Tarentola mauritanica*) capturées à Biskra, au mois d'octobre 1913, a donné 28 fois des *Leptomonas* ayant le même aspect que les cultures de *L. tropica*, 26 fois des trypanosomes et 7 fois une culture mixte de *Leptomonas* et de trypanosomes. Les formes trypanosomes, qui se rapportent sans doute au *Trypanosoma platydactyli*, seraient, d'après les auteurs, toujours bien distinctes des formes *Herpetomonas*.

D'autre part, Chatton et Blanc ont trouvé dans le sang de 8 geckos de Metlaoui (Tunisie) de petits éléments endoglobulaires ayant des analogies avec les *Leishmania* (1).

On a vu plus haut que toutes les tentatives pour produire le bouton chez l'homme, ou chez les animaux sensibles, à l'aide des phlébotomes (piqûres ou inoculation du produit de broyage), ont échoué; d'autre part, il paraît résulter des recherches de Laveran, que les lacertiens, et la tarente en particulier, sont réfractaires à la *L. tropica*, inoculée à l'état préflagellé ou flagellé (2).

Une dernière hypothèse consiste à supposer que les insectes piquants qui inoculent la *L. tropica* constituent eux-mêmes le réservoir du virus.

Laveran et Franchini ont montré qu'on pouvait produire des infections légères chez des Mammifères en leur inoculant des flagellés de puces ou de moustiques (3). Fantham et Annie Porter ont provoqué, chez la souris et chez le chien, des infections très voisines des leishmanioses avec *Herpetomonas jaculum* (de *Nepa cinerea*) et *Herpetomonas ctenocephali* (4). On peut concevoir que, dans certaines conditions climatiques, les *Herpetomonas* des phlébotomes ou des simulies, par exemple, deviennent pathogènes pour l'homme.

L'hypothèse de l'existence d'un réservoir de virus du bouton d'Orient, en dehors du réservoir constitué par les malades

(1) Ed. Chatton et G. Blanc, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 25 juillet 1914.

(2) A. Laveran, *Soc. de path. exotique*, 10 mars 1915.

(3) A. Laveran et G. Franchini, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1er septembre et 4 novembre 1913, 16 février et 16 mars 1914 et *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914.

(4) H.-B. Fantham et Annie Porter, *Proceed. Cambridge philosophic. Soc.*, 6 janvier et 14 juin 1915.

eux-mêmes, ne s'impose pas d'ailleurs. « Le bouton d'Orient, écrit C. Nicolle, a une incubation et une durée si longues (la première peut atteindre, la seconde dépasse souvent six mois) qu'aucun réservoir autre que l'homme n'est utile pour la conservation du virus de la saison où se prend le bouton d'Orient (août-septembre en Afrique Mineure), à la même saison de l'année suivante. D'autre part, dans nos enquêtes, aucun des animaux domestiques ou sauvages des régions infectées ne s'est montré atteint de leishmaniose localisée ou généralisée (1). »

Conclusions. — Le bouton d'Orient est inoculable à l'homme et à différents animaux : chien, singe, souris notamment; il est auto-inoculable; les malades transportent le virus avec leurs ongles et se l'inoculent en se grattant.

Le bouton d'Orient se développe souvent sur des lésions accidentelles de la peau; des linges souillés par le virus peuvent servir à la transmission.

Le fait que le bouton d'Orient se montre d'ordinaire sur des parties du corps non protégées par les vêtements semble indiquer que le virus est propagé par un insecte ailé.

La punaise a été cependant incriminée. Patton a constaté l'existence de *Leishmania* à l'état flagellé, toujours en petit nombre, dans l'estomac de punaises nourries sur des sujets atteints du bouton de Cambay; les parasites n'ont été vus ni dans les glandes salivaires ni dans la dernière portion du tube digestif. Toutes les tentatives faites pour obtenir des boutons d'Orient chez l'homme à l'aide de ces punaises ont échoué.

Parmi les insectes ailés, on a accusé surtout les moustiques et les phlébotomes. Chez des *Stegomyia* nourris à la marge de boutons ulcérés, Wenyon a trouvé des flagellés qui semblaient être un stade de développement des *Leishmania*, mais les essais d'inoculation du bouton à l'homme au moyen des *Stegomyia* infectés, ou paraissant tels, ont échoué; il en a été de même des essais d'inoculation faits à l'aide des phlébotomes.

Il est possible que les insectes piquants, sans être les agents directs d'inoculation de la *Leishmania tropica*, jouent un rôle

(1) C. Nicolle, *Congrès d'Hyg. et de Démogr. de Washington*, septembre 1912, C. R., t. V, p. 631.

important en donnant lieu, par leurs piqûres irritantes, et par les égratignures consécutives au grattage, à de petites plaies qui servent de portes d'entrée au virus.

La mouche domestique, si dangereuse au point de vue de la propagation de la fièvre typhoïde, de la dysenterie, du choléra et de la tuberculose, paraît susceptible de transmettre aussi le bouton d'Orient (Laveran, Carter, Row, Wenyon, Cardamatis et Melissidis, Martoglio).

Dans les pays où le bouton d'Orient est endémique, la mouche domestique, très avide des excreta des ulcérations, se souille continuellement avec ces excreta et paraît beaucoup plus apte à la transmission des *Leishmania* sur des érosions de la peau que les insectes qui sucent le sang presque toujours loin des boutons, et qui par suite ont peu de chances de s'infecter, la *L. tropica* ne se trouvant presque jamais dans le sang périphérique.

La mouche domestique n'opère qu'un transport mécanique de la *L. tropica* qui ne paraît pas susceptible d'évoluer chez elle.

On s'est demandé si certains animaux pouvaient servir de réservoir au virus du bouton d'Orient. Le chien seul semble apte à jouer ce rôle dans les régions où la leishmaniose cutanée canine est commune, à Téhéran par exemple. Partout ailleurs ce sont les malades atteints de boutons qui paraissent constituer le seul réservoir du virus. De nouvelles recherches sur cette question s'imposent d'ailleurs.

Il est possible que l'espèce *L. tropica* comporte des variétés et que les modes de transmission du bouton diffèrent d'une zone d'endémicité à l'autre. Cela permettrait de comprendre certaines divergences qui existent entre les observateurs, suivant que leurs recherches ont été faites, par exemple, aux Indes ou en Algérie.

RECHERCHES CYTOLOGIQUES DANS LE TÉTANOS HUMAIN

par Y. MANOUÉLIAN
de l'Institut Pasteur de Paris.

(Avec les planches VIII et IX.)

Peut-on déceler par la méthode histologique des modifications que le passage de la toxine tétanique fait subir aux neurones moteurs périphériques? Voilà le but de ce travail.

En utilisant la méthode de fixation au sublimé à alcool acétique de Gilson et la méthode de Mann au bleu de méthyle-éosine pour l'étude histo-neurologique du tétanos humain, nous avons découvert dans le cytoplasme et dans les expansions cytoplasmiques des cellules nerveuses de la moelle épinière, surtout dans les neurones de la corne antérieure, des corpuscules particuliers colorés en violet rouge ou rouge franc de dimension inégale et de forme variable.

Disposés d'une façon plus ou moins régulière, ces corpuscules paraissent en voie d'évolution : on peut en effet saisir les différentes phases de leur transformation; ils se colorent faiblement en rouge, à un autre stade ils prennent le bleu, puis ils deviennent de plus en plus pâles (planche VIII, fig. 1, 3, 2, 5, 4). Ce qu'il y a de remarquable, c'est que ces éléments manquent absolument dans les cellules nerveuses de la corticalité cérébrale, la corne d'Ammon, etc., ils n'existent que dans les centres ponto-bulbo-médullaires et surtout dans les cellules nerveuses motrices, qui sont comme on sait en hyperactivité sous l'influence de la toxine tétanique.

D'où viennent ces corpuscules? Normalement, la méthode de Mann ne décèle rien de particulier dans le cytoplasme de ces cellules; même les granulations de Nissl se colorent fort mal ou pas du tout avec cette méthode. Comme il existe entre nos

corpuscules et les granulations de Nissl une analogie assez frappante, nous inclinons à penser que dans le tétanos humain, où les cellules motrices subissent des modifications profondes, les corpuscules de Nissl présentent des réactions histo-chimiques anormales ; ils se laissent colorer par la méthode de Mann. Seulement, alors que les corps chromatophiles de Nissl sont basophiles à l'état normal, nos corpuscules sont amphophiles ou acidophiles.

Colorons maintenant des coupes traitées par la méthode de Mann avec la méthode de Nissl. Nous verrons apparaître dans l'intérieur des cellules nerveuses un grand nombre de corpuscules basophiles de Nissl qui n'étaient nullement colorés par la méthode de Mann, nous devons conclure de ce fait qu'il n'y a qu'une partie, plus ou moins considérable, des granulations de Nissl qui subissent les transformations que nous venons d'indiquer.

La méthode de Nissl, qui permet de constater l'existence des lésions chromatolytiques des cellules nerveuses (planche VIII, fig. 7), ne montre pas ces lésions aussi étendues qu'on pourrait l'attendre. Il existe en effet un grand nombre de neurones où les corps chromatophiles sont très abondants (planche VIII, fig. 6).

Les méthodes de Mann et de Nissl montrent aussi des modifications importantes du noyau des cellules nerveuses. La membrane nucléaire disparaît; par suite de la diffusion d'une certaine partie de la chromatine du nucléole, le suc nucléaire se trouve plus ou moins coloré. Le nucléole, qui normalement se colore en bleu foncé avec ces deux méthodes, présente quelques sphérules rouges par la méthode de Mann ; parfois il apparaît entièrement teint en rouge; néanmoins, grâce à leur réfringence, les sphérules se distinguent bien. Enfin, le nucléole se fragmente en un certain nombre de granulations (planche VIII).

Que devient la charpente neurofibrillaire des cellules motrices dans le tétanos humain? Pour en faire une étude soigneuse, nous nous sommes servi de la fixation à l'alcool ammoniacal et surtout d'un mélange composé d'alcool absolu, de chloroforme, d'acide acétique cristallisable à parties égales. Ce mélange nous a fourni de fort belles préparations. Il est nécessaire d'employer une assez grande quantité de ce fixateur,

et, au besoin, de le renouveler, de façon à obtenir des pièces suffisamment transparentes. Après une fixation de quarante-huit heures tout au plus, il est indispensable de soumettre les pièces à un lavage soigné à l'alcool absolu, puis à l'alcool à 90 degrés deux ou trois fois, puis après lavage à l'eau distillée les pièces sont traitées par le procédé d'imprégnation argentique de Ramon y Cajal, ce procédé est assez connu pour que nous nous dispensions de le décrire.

Grâce à cette technique, nous avons pu étudier avec soin les neurofibrilles des cellules motrices (planche IX, fig. 8, 9, 10), et il ressort de nos recherches que ces cellules contiennent un réseau neurofibrillaire d'une grande richesse et d'une merveilleuse délicatesse, ce qui implique sa parfaite intégrité.

Les faits que nous venons d'exposer nous autorisent à conclure :

1° Qu'il est possible de se rendre compte par la méthode histologique que le passage de la toxine tétanique fait subir aux neurones moteurs périphériques des modifications consistant en apparition dans le cytoplasme et les expansions cytoplasmiques des corpuscules qui subissent une série de transformations.

2° Il nous paraît digne de remarque que, pendant que le cytoplasme et les expansions cytoplasmiques du neurone moteur périphérique subissent des changements importants, le réseau neuro-fibrillaire qui existe dans les mêmes portions de ce neurone garde son aspect normal.

EXPLICATION DES PLANCHES

Toutes nos figures représentent des cellules motrices de la moelle épinière dans le tétanos humain ; elles sont dessinées à la chambre claire de Zeiss avec l'objectif à immersion au 12e et l'oculaire 4 de Leitz.

Les figures 1, 2, 3, 4, 5 proviennent de préparations faites par la méthode de Mann ; les figures 6, 7, avec la méthode de Nissl modifiée. Dans la figure 7 où l'on constate une chromatolyse centrale, le fond de la préparation était coloré à l'éosine. Quant aux dessins 8, 9, 10, ils se rapportent à des préparations obtenues par l'imprégnation au nitrate d'argent (méthode des neurofibrilles ; virage au chlorure d'or).

BACILLES TUBERCULEUX ET ARSENIC

par CHARPENTIER.

I

Tous les médecins connaissent les heureux résultats de la médication arsénicale dans certaines formes de tuberculose; le cacodylate de soude, en particulier, est pour beaucoup de tuberculeux un médicament précieux. L'arsenic agit-il sur le bacille ou, sans action directe sur lui, donne-t-il à l'organisme plus de vigueur pour lui résister? ou encore formerait il, en passant par les cellules de l'organisme, ou même par la cellule microbienne, des composés doués de propriétés thérapeutiques? Une question très intéressante était posée; nous avons tenté de la résoudre par l'expérience.

Nos recherches étaient en cours, quand nous nous sommes aperçu que, si aucun mémoire important n'avait paru sur la question même qui nous occupait, du moins l'action de l'arsenic sur les bacilles tuberculeux avait-elle fait déjà l'objet de quelques travaux, encore inédits d'ailleurs.

Dans un article (1), intitulé : *Zur Chemotherapie der Tuberkulose mit Gold*, Feldt dit, incidemment, que M. Ruppel a depuis longtemps, dans des recherches encore inédites, obtenu une résistance (*Festigkeit*) du bacille tuberculeux vis-à-vis de l'arsenic et du mercure.

Puis c'est Lœwenstein (2) qui, d'après une communication écrite de la Fabrique de matières colorantes de Hœchst, rapporte qu'en 1908 Benario avait engagé la Fabrique à préparer une tuberculine arséniée pour la thérapeutique et avait observé les faits suivants. L'arsenic, ajouté au milieu de culture sous forme d'acide arsénieux, dans la proportion de 1 p. 200.000

(1) *Deut. med. Woch.*, 1913, p. 549.
(2) KOLLE et WASSERMANN, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismus*, t. V, p. 626.

empêche tout développement du bacille tuberculeux; mais les bacilles peuvent s'habituer peu à peu à pousser dans les milieux arséniés et même à emmagasiner dans leurs cellules jusqu'à 0,3 p. 100 de leur poids d'arsenic; l'action thérapeutique d'une émulsion de ces bacilles arséniés n'est pas supérieure à celle de la tuberculine ordinaire.

Ces très brèves communications des savants allemands nous engagent à faire connaître dès maintenant le résultat de nos observations.

Il nous faut d'abord rappeler que les premières recherches concernant l'action de l'arsenic sur les cultures microbiennes datent déjà de près de vingt ans; elles remontent à 1896 et 1897 et sont dues à Emmerling (1) et à Gosio (2); puis en 1900 Ampola et Ulpiani (3) et en 1910 Rosenblatt et Rosenband (4) s'occupèrent, à des points de vue très spéciaux, de la culture de micro-organismes en présence de composés arsénicaux. Contradictoires sur certains points, les résultats de ces divers travaux s'accordaient cependant à établir que certains microbes peuvent vivre et se multiplier dans des milieux renfermant de l'arsenic, cet arsenic leur ayant été offert le plus souvent sous forme d'acide arsénieux, plus rarement sous celui d'acide arsénique ou d'acide méthylarsénique.

Or on connaît d'autres substances arsénicales dont la toxicité pour les animaux supérieurs est bien moindre que celle de l'acide arsénieux et l'acide arsénique : le cacodylate de soude, l'atoxyl, le méthylarsinate de soude (arrhénal), par exemple. Le bacille tuberculeux ne se comporterait-il pas vis-à-vis de ces substances, douées de propriétés thérapeutiques incontestables, autrement qu'il ne le fait vis-à-vis des acides arsénieux et arsénique? Et d'abord pouvait-il se multiplier en leur présence ?

Nous avons tenté la culture du bacille tuberculeux dans des milieux renfermant ces divers composés arséniés.

(1) Emmerling, *Ber. der Deut. chem. Gesell.*, 1896, p. 2728, et 1897, p. 1026.

(2) Gosio, *Ber. der Deut. chem. Gesell.* 1897, p. 1024.

(3) Amnola et Ulpiani, Sur l'action réductrice des bactéries dénitrifiantes. *Gazz. chim. ital.*, t. XXIX, p. 49, et in *Bull. Soc. chim.*, 3e série, t. XXIV, p. 363.

(4) Rosenblatt et Rosenband, Recherches sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la fermentation alcoolique. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1910, p. 196.

Toutes les expériences ont été conduites de la même manière. Une solution aqueuse, à un titre connu, de chaque composé arsénical était stérilisée par filtration sur bougie — à la température de l'ébullition, certaines d'entre elles s'altèrent, celles de cacodylate par exemple — et cette solution filtrée était ajoutée en proportion déterminée à une quantité connue de bouillon de veau glycériné à 4 p. 100, employé couramment pour la culture du bacille tuberculeux. Dans chaque série de cultures on faisait en sorte que la quantité d'arsenic introduite dans chaque ballon fût la même quel que soit le composé arsénical employé (le calcul permet de déduire de la formule de chaque composé sa teneur exacte en arsenic). Les ballons arséniés étaient ensemencés en même temps que des ballons témoins contenant du bouillon glycériné ordinaire; nous avons choisi comme semence des bacilles bovins, parce que nos bacilles bovins poussaient beaucoup plus vigoureusement que nos bacilles humains et étaient très virulents pour le cobaye.

Les composés arséniés dont nous avons étudié l'action sur la multiplication du bacille tuberculeux ont été : le cacodylate de soude $AsO(CH^3)^2ONa$, le méthylarsinate de soude $AsO(CH^3)(ONa)^2$, l'atoxyl ou aminophénylarsinate de soude $AsO(C^6H^4,NH^2)(ONa)(OH)$ et l'arséniate de soude $AsO(ONa)^2OH$, ce dernier déjà étudié à certains points de vue par d'autres auteurs comme nous l'avons rappelé plus haut.

Un premier fait très net est mis en évidence par l'examen des cultures : l'arséniate de soude, le méthylarsinate de soude, le cacodylate de soude et l'atoxyl n'empêchent pas la culture du bacille tuberculeux, même à doses très élevées pour certains d'entre eux.

Un bouillon de culture renfermant 1/675 de son poids d'As sous forme d'*arséniate de soude*, — soit 1/162 de son poids d'arséniate de soude — permet une culture aussi riche qu'un bouillon ne contenant pas d'arsenic; pour empêcher le développement du microbe, il faut arriver à des doses de 1/300 d'As (c'est-à-dire 1/75 d'arséniate).

Le *méthylarsinate* à la même dose que l'arséniate, soit 1/675 d'As, ou 1/184 de méthylarsinate, n'entrave pas la culture; cependant celle-ci est en retard sur les cultures témoins. Le

méthylarsinate de soude exercerait donc sur la pullulation du bacille tuberculeux une action très légèrement nuisible.

Le *cacodylate* est franchement plus délétère, 1/1600 d'As — ou 1/586 de cacodylate — suffit pour retarder beaucoup la culture, qui finit cependant par se faire; elle se fait même, mais avec plus de lenteur encore naturellement, en présence d'une dose double de cacodylate.

Quant à l'*atoxyl*, introduit dans le milieu de culture aux mêmes doses que l'arséniate de soude, il est encore moins nuisible que lui. 1/675 d'arsenic sous forme d'atoxyl — ou 1/162 d'atoxyl — loin de gêner la culture, semble la favoriser. Résultat d'autant plus intéressant qu'il était moins attendu; l'atoxyl ne renferme-t-il pas dans sa molécule le noyau de l'aniline qui se montre un antiseptique énergique, en particulier pour le bacille tuberculeux — il suffit d'ajouter une goutte d'aniline à 100 cent. cubes de bouillon ordinaire pour le rendre impropre à la culture du bacille. Si, de plus, il est dans l'atoxyl un élément qui favorise la multiplication du bacille de Koch ce ne saurait être l'arsenic, car en remplaçant dans le milieu de culture l'atoxyl $ASO(C^6H^4,NH^2)(ONa)(OH)$ par le sulfanilate de soude $SO^2(C^6H^4,NH^2)(ONa)$, qui en diffère par la substitution du soufre à l'arsenic, on obtient le même résultat; la culture, très riche sur un bouillon renfermant 1/326 de son poids d'atoxyl, ne l'est pas moins sur du bouillon contenant le même nombre de molécules de sulfanilate de soude, soit 1/439 de son poids. Serait-ce le noyau de l'aniline qui, incorporé dans certaines combinaisons, favoriserait la culture?

Bref, à des doses déjà relativement élevées, aucune des substances étudiées n'entrave la pullulation du bacille tuberculeux, l'un des microbes cependant les plus exigeants au point de vue des conditions de culture; elles se séparent donc nettement de l'acide arsénieux dont 1/200.000^e, d'après Benario (1), empêche toute culture. Si on les classe d'après leur action sur la culture du bacille, ces composés se rangent dans l'ordre suivant : atoxyl, arséniate de soude, méthylarsinate de soude, cacodylate de soude; l'atoxyl se montrant le moins empêchant, le cacodylate de soude le plus antiseptique.

(1) Kolle et Wassermann, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismus*, t. V, p. 626.

Une nouvelle série d'expériences exécutées avec une race de bacilles bovins autre que celle que nous avons employée dans la première série — les cultures en bouillon de cette nouvelle race sont un peu plus difficiles à obtenir — a donné des résultats différents, mais qui, cependant, confirment les précédents. En présence de 1/4600 d'arsenic sous forme d'arséniate ou de cacodylate, la culture est restée très maigre, celle avec cacodylate bien plus que celle avec arséniate, mais en présence d'atoxyl les microbes se sont très bien développés. L'atoxyl n'a donc aucunement nui à la multiplication des bacilles, l'arséniate un peu et le cacodylate beaucoup (1); c'est précisément le même ordre que celui indiqué plus haut. Remarquons, en passant, de quelle prudence il faut faire preuve quand on dit qu'un microbe — surtout s'il s'agit du bacille tuberculeux, dont la culture est plus délicate que celle de la plupart des autres microbes — ne se développe qu'en présence d'une dose donnée d'une substance; tout dépend de la race de microbes et de son entraînement à se multiplier dans les milieux artificiels.

Une dernière remarque. En considérant les formules :

Acide arsénique	$AsO(OH)^3$
Acide méthylarsénique	$AsO(OH)^2(CH^3)$
Acide cacodylique	$AsO(OH)(CH^3)^2$

on est immédiatement frappé d'une coïncidence : le corps arsénié a une action d'autant plus prononcée sur la culture du bacille tuberculeux qu'il contient plus de groupes CH^3 substitués à des groupes OH.

II

Il est des races de bacilles tuberculeux qui poussent très bien dès la première culture, c'est-à-dire sans avoir subi d'entraînement, sur des bouillons renfermant des quantités considérables de certains composés arséniés. Comment se comportent ces bacilles vis-à-vis de l'arsenic ? Celui-ci pénètre-t-il dans les cellules microbiennes, autrement dit les bacilles fixent-ils de

(1) Dans cette série nous n'avons pas fait de cultures en présence de méthylarsinate de soude, la première nous ayant montré que ces cultures tenaient le milieu entre celles sur arséniate et celles sur cacodylate.

l'arsenic dans leurs cellules ? L'analyse chimique devait nous le dire.

On sait aujourd'hui déceler les plus petites traces d'arsenic et les doser avec une très grande précision grâce à la méthode de Marsh, perfectionnée par M. Bertrand (1). C'est à elle que nous avons eu recours. Elle n'est applicable que si l'arsenic est à l'état d'acide arsénique et sans mélange avec des matières organiques. On commence donc par détruire la matière organique des corps microbiens, en même temps que l'on transforme leur arsenic en acide arsénique, puis on fait les dosages au moyen de l'appareil de Marsh : l'arsenic se dépose sous forme d'anneau dans le tube à dégagement et cet anneau peut être pesé.

Un fragment du voile microbien développé sur un bouillon arsénié est lavé à plusieurs reprises dans l'eau distillée stérile, puis enfermé dans une ampoule close et chauffé à 100 degrés (température qui tue les microbes). Après dessiccation dans le vide sec, les bacilles sont pesés, puis leur matière organique est détruite en suivant l'un des deux procédés préconisés par M. Bertrand : chauffage dans un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique à une température inférieure à celle de l'ébullition de l'acide sulfurique, ou combustion dans l'oxygène sous pression à l'intérieur de la bombe calorimétrique de Berthelot.

Une cause d'erreur est à éviter. Le voile microbien développé sur du bouillon arsénié est évidemment imprégné de ce bouillon ; en déterminant la quantité d'arsenic contenue dans un fragment prélevé sans précaution, on trouverait un chiffre trop fort, puisqu'il comprendrait, outre l'arsenic fixé dans le protoplasma des bacilles, celui du bouillon les mouillant extérieurement. La correction est aisée : en pesant les bacilles humides, puis secs, — après dessiccation sur l'acide sulfurique, — on détermine le poids d'eau évaporée et le nombre qui mesure

(1) Gabriel Bertrand, Sur la recherche et la preuve de l'arsenic chez les animaux. *Ann. Chim. et Phys.*, 7e série, t. XXIX, p. 242.

Gabriel Bertrand, Emploi de la bombe calorimétrique de M. Berthelot, pour démontrer l'existence de l'arsenic dans l'organisme. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVII, p. 581.

Gabriel Bertrand et Zoltan Vamossy, Sur le dosage de l'arsenic par la méthode de Marsh. *Ann. Chim. et Phys.*, 8e série, t. VII, p. 523.

ce poids mesure aussi le volume du bouillon qui mouillait les bacilles extérieurement et imbibait leur protoplasma; on pourrait évaporer à sec un volume de bouillon arsénié égal à ce volume, puis doser l'arsenic du résidu et retrancher le chiffre obtenu de celui trop fort trouvé pour les corps microbiens; mais, comme le bouillon contient proportionnellement beaucoup plus d'arsenic que les microbes, il vaut mieux laver le fragment de voile à plusieurs reprises et longtemps dans l'eau distillée avant d'y doser l'arsenic, puis, pour faire la correction, doser l'arsenic non point dans le bouillon, mais dans la dernière eau de lavage.

Très net est le résultat des analyses. Les bacilles tuberculeux qui ont poussé sur du bouillon renfermant de l'arséniate de soude et de l'atoxyl (nous n'avons pas cherché l'arsenic dans les bacilles des cultures faites en présence de méthylarséniate de soude et de cacodylate de soude) ont sans aucun doute fixé de l'arsenic dans leur protoplasma. Les quantités fixées sont très faibles; en voici un exemple.

Sur du bouillon renfermant 0,100 gramme d'arsenic sous forme d'atoxyl par 100 cent. cubes de liquide, nous prélevons après vingt-cinq jours de culture un fragment de voile très bien développé; après dessiccation sur l'acide sulfurique, son poids est de 0,211 gramme. Ces microbes ont donné un anneau d'arsenic pesant 0,140 milligr. (1). La correction due à l'arsenic contenu dans l'eau de lavage était sans intérêt, l'anneau d'arsenic produit étant absolument impondérable. Ainsi donc 211 milligrammes de bacilles arséniés renfermaient 0,140 milligr. d'As, soit 0,0663 p. 100 de leur poids.

Nous sommes évidemment bien loin du nombre 0,3 p. 100 trouvé par Benario (2), mais le résultat de nos expériences est de même sens que le sien, et il faut remarquer qu'il est obtenu dès la première culture sur bouillon arsénié sans adaptation progressive.

Les corps des bacilles ayant poussé sur des bouillons arséniés contiennent de l'arsenic, mais est-il nécessaire d'ajouter artificiellement de l'arsenic au milieu de culture pour que les

(1) Pesée effectuée à une balance exceptionnellement sensible permettant d'apprécier le 1/250 de milligramme.

(2) *Loc. cit.*

microbes qu'il nourrira en renferment? Nous nous expliquons. M. Bertrand a montré (1) que l'arsenic existe normalement dans les tissus des animaux, qu'il s'agisse de l'homme et des mammifères ou des animaux inférieurs, oursins, étoiles de mer, éponges, etc... ; n'existerait-il pas toujours de même dans les corps des bacilles tuberculeux? L'expérience de contrôle a donné un résultat positif : on trouve des quantités notables (quoique impondérables) d'arsenic dans des bacilles qui ont poussé sur du bouillon de veau glycériné ordinaire — et l'on devait s'y attendre. L'ubiquité de l'arsenic établie par M. Bertrand permet d'affirmer l'existence de ce corps dans les matériaux qui entrent dans la composition du bouillon : viande, peptone, glycérine. Nous avons vu que les bacilles tuberculeux poussent très abondamment sur des milieux arséniés et accumulent dans leurs cellules l'arsenic qu'on leur offre; ne serait-il pas surprenant qu'ils ne fixent pas celui qui se trouve normalement dans leur milieu de culture?

III

En poussant sur des bouillons renfermant les divers composés que nous avons étudiés ci-dessus, les bacilles tuberculeux se chargent d'arsenic; leur virulence en est-elle modifiée? Les quelques essais que nous avons faits nous permettent de répondre négativement. Les cobayes inoculés sous la peau avec ces microbes arséniés sont morts dans les mêmes conditions que les témoins.

IV

Les bacilles tuberculeux se développent très bien dans des milieux de culture contenant de l'arséniate de soude, du méthylarsinate de soude, du cacodylate de soude, de l'atoxyl, il était intéressant de savoir comment se comporteraient d'autres espèces microbiennes en présence de ces mêmes substances. Des résultats obtenus pouvaient découler des indica-

(1) *Loc. cit.*

tions précieuses sur les affinités du bacille tuberculeux avec telle ou telle espèce microbienne.

On sait déjà par les expériences d'Emmerling (1) et de Gosio (2) que des bacilles, levures, champignons inférieurs, peuvent vivre dans des milieux de culture renfermant de l'acide arsénieux.

Nos essais ont porté sur la *Bactéridie* charbonneuse, le *Bacterium coli*, le *Bacillus subtilis*, sur la *Levure de bière* et sur l'*Aspergillus niger*.

La *Bactéridie*, le *B. coli*, le *B. subtilis* étaient cultivés dans du bouillon de veau — de formule courante — stérilisé à 120 degrés auquel nous ajoutions, comme pour la culture du bacille tuberculeux, une solution aqueuse du composé arsénical stérilisée par filtration. Les milieux renfermaient 1/1.000 d'arsenic sous forme d'arséniate de soude, de méthylarsinate de soude ou d'atoxyl et 1/5.000 seulement sous forme de cacodylate de soude (qui est plus toxique que les autres composés arséniés pour le bacille tuberculeux), c'est-à-dire 0,416 p. 100 d'arséniate, 0,365 p. 100 de méthylarsinate, 0,414 p. 100 d'atoxyl et 0,054 p. 100 de cacodylate. Les résultats des cultures sont consignés dans le tableau ci-dessous :

	CULTURES DE		
	Bactéridie	*B. coli*	*B. subtilis*
Arséniate	très riche	très riche	très riche
Méthylarsinate	très riche	riche	pauvre
Cacodylate	très riche	très riche	très riche
Atoxyl.	pauvre	pauvre	nulle

L'arséniate, le méthylarsinate, le cacodylate ne nuisent aucunement aux cultures (sauf le méthylarsinate à la culture du *Bacillus subtilis*), mais par contre l'atoxyl leur nuit beaucoup.

(1) Emmerling, *Ber. der Deut. Chem. Ges.*, 1896, t. III, p. 2728.
(2) Gosio, *Ber. der Deut. Chem. Ges.*, 1897, t. I, p. 1024.

La *Levure de bière* a été cultivée dans le milieu suivant :

Maltopeptone	10 grammes.
Phosphate neutre d'ammoniaque	0,25 gr.
Sucre	100 grammes.
Eau distillée	1.000 grammes.

stérilisé à 120 degrés, auquel était ajoutée une quantité donnée d'une solution aqueuse d'un composé arsénical stérilisée par filtration sur bougie. Pour comparer, au point de vue qui nous occupe, la levure aux autres microbes déjà étudiés, il fallait observer l'action de l'arsenic sur sa multiplication et non sur la fermentation du sucre; il fallait donc mettre la levure dans des conditions où son pouvoir végétatif pouvait s'exercer au mieux, c'est-à-dire faciliter l'aération des cellules; la culture a été faite dans le milieu ci-dessus réparti en couche mince sur le fond de boîtes plates de M. Roux, renfermant chacune 150 cent. cubes de liquide.

Les composés arsénicaux, arséniate de soude, cacodylate de soude et atoxyl, ont été ajoutés au milieu en proportions telles que sa teneur en arsenic soit de 1/30.000, de 1/7.500 ou de 1/1.500; on jugeait ainsi immédiatement quelle dose d'arsenic gênait la multiplication de la levure. Les résultats sont consignés dans le tableau que voici :

NATURE du composé arsénié	QUANTITÉS D'ARSENIC CONTENUES DANS LE MILIEU		
	1/30.000	1/7.500	1/1.500
Arséniate	culture tr. riche	culture tr. pauvre	culture nulle
Cacodylate	culture tr. riche	culture tr. riche	culture pauvre
Atoxyl.	Culture tr. riche	culture tr. riche	culture tr. riche

On voit immédiatement que l'arséniate, même à la très faible dose de 1/7.500, gêne beaucoup la multiplication de la levure, que le cacodylate la gêne moins et l'atoxyl aucunement.

L'*Aspergillus niger* (*alias Sterigmatocystis nigra*) a été cultivé sur du liquide Raulin auquel était ajoutée la solution

aqueuse du composé arsénical. Les cultures étaient faites dans des ballons de 1 lit. 1/2 de capacité contenant seulement 200 cent. cubes de liquide chacun, l'expérience nous ayant appris que dans ces conditions le voile mycélien, s'il se développe normalement, a suffisamment d'air à sa disposition pour sporuler complètement. Sur du liquide Raulin renfermant 1/2.000 d'*Aspergillus* sous forme d'arséniate de soude, de cacodylate de soude ou d'atoxyl, des cultures se sont développées, qui, au bout de dix jours, présentaient les aspects suivants :

NATURE du composé arsénical.	ÉTAT DU MYCELIUM
—	—
Arséniate	Mycélium en petits ilots, pas de sporulation.
Cacodylate	Mycélium spongieux, début de sporulation.
Atoxyl	Mycélium très beau, ébauche de sporulation.
Culture témoin (liq. Raulin, sans As).	Mycélium très beau, sporulation complète.

A la dose indiquée, l'arséniate de soude empêche presque complètement la culture de l'*Aspergillus*, le cacodylate la contrarie beaucoup, l'atoxyl ne la gêne point. Il semble de plus que l'atoxyl nuise à la sporulation, car en sa présence pas de formation de spores. Tous ceux qui ont cultivé l'*Aspergillus*, non point comme Raulin dans des cuvettes ouvertes, mais dans des ballons fermés avec du coton, savent, il est vrai, que si, pour une raison ou une autre, le mycélium ne se développe pas très rapidement, la sporulation ne se fait pas, le mycélium ayant consommé pour végéter tout l'oxygène du ballon ; mais dans le cas présent, le mycélium sur liquide Raulin atoxylé était au bout de trois jours au moins aussi bien développé que celui poussé sur liquide Raulin ordinaire, et tandis que ce dernier était, sept jours après, complètement noir, le premier présentait à peine un léger piqueté noir ; la formation des spores avait été presque complètement arrêtée.

Résumons maintenant dans leurs grandes lignes les résultats que nous avons obtenus avec tous les microorganismes que nous avons étudiés. Le tableau suivant montre qu'en présence de l'arséniate, du cacodylate et de l'atoxyl, la *Levure* et l'*Aspergillus* se comportent autrement que la *Bactéridie*, le *B. coli* et le *B. subtilis* ; les premiers poussant bien alors que

les autres ne se développent pas et inversement (1); quant au bacille tuberculeux, il imite l'*Aspergillus* et la *Levure* en présence de l'arséniate, mais il imite les bacilles en présence du cacodylate et de l'atoxyl.

	CULTURES DE					
	Aspergillus	*Levure*	*B. tuberculeux*	*Bactéridie*	*B. coli*	*B. subtilis*
Arséniate. . . .	nulle	nulle	tr. riche	tr. riche	tr. riche	tr. riche
Méthylarsinate .	....	....	tr. riche	tr. riche	riche	pauvre
Cacodylate . . .	pauvre	pauvre	pauvre	tr. riche	tr. riche	tr. riche
Atoxyl.	tr. riche	tr. riche	tr. riche	pauvre	pauvre	nulle

Or, *au point de vue morphologique*, la *Levure* est regardée comme un champignon inférieur, rien de surprenant donc à ce qu'elle se comporte en présence d'arsenic comme l'*Aspergillus*. Le bacille tuberculeux a des analogies avec les Streptothricés, voisins des champignons inférieurs; n'est-il pas dès lors intéressant de constater que sa vie dans des milieux arséniés rappelle tantôt celle des champignons tantôt celle des bacilles?

La *Levure* et l'*Aspergillus* fixent-ils de l'arsenic dans leurs cellules?

La *Levure* pullule abondamment en présence de l'atoxyl. Nous avons cherché si ses cellules contenaient alors de l'arsenic. Les analyses ont été conduites comme pour la recherche de l'arsenic dans les bacilles tuberculeux et nous ont donné le même résultat : les cellules de levure peuvent fixer l'arsenic de l'atoxyl, mais en faibles quantités comme les bacilles tuberculeux.

V

L'*Aspergillus* se développe bien, lui aussi, sur un liquide renfermant de l'atoxyl, que fait-il de l'arsenic? Ici, comme les

(1) Exception faite pour le *B. subtilis*, en présence du méthylarsinate.

poids de matière organique (voile mycélien) et d'arsenic en jeu sont considérables, nous avons voulu répondre à cette question plus complètement que nous ne l'avons fait plus haut pour le bacille tuberculeux; nous avons cherché si le mycélium fixait de l'arsenic et, en outre, si au cours de la culture une certaine quantité d'arsenic n'était pas volatilisée sous forme, soit d'hydrogène arsénié, soit de combinaison organique plus ou moins complexe, telles certaines arsines.

Il nous fallait donc établir le bilan de l'arsenic avant et après la culture, c'est-à-dire doser l'arsenic introduit dans le liquide avant l'ensemencement, puis, la plante développée, le doser tant dans les tissus végétaux que dans le liquide sous-jacent, faire la somme des deux poids et comparer cette somme au poids d'arsenic initial.

L'analyse devant porter sur des poids assez considérables d'arsenic, nous l'avons conduite en suivant non la méthode de Marsh mais celle de Levol, dans laquelle l'arsenic est précipité à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien et pesé sous forme de pyroarséniate de magnésium.

Deux ballons de 1.500 cent. cubes de capacité, renfermant chacun 200 cent. cubes de liquide Raulin atoxylé, sont mis à l'étuve, l'un ensemencé avec des spores d'*Aspergillus*, l'autre non. Au bout de deux mois, les deux ballons sont retirés de l'étuve; le ballon ensemencé contient un mycélium blanc bien développé, mais à peine piqueté çà et là de points noirs, c'est-à-dire non sporulé.

On dose d'abord l'arsenic dans le liquide non ensemencé. 20 cent. cubes sont concentrés au bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse (le sucre présent empêche la concentration à sec); cette matière pâteuse ne peut être brûlée dans la bombe, il faut l'attaquer par le mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique (recommandé par M. Bertrand); le produit de l'attaque additionné d'eau et filtré sur papier donne un liquide clair, renfermant l'arsenic, et des matières charbonneuses restées sur le filtre, ces dernières pouvant encore contenir des traces d'arsenic si l'attaque a été incomplète, ce qui arrive souvent. Pour éviter toute perte, le filtre renfermant les matières charbonneuses est desséché à l'étuve, puis brûlé dans la bombe et l'on traite l'eau de lavage de la bombe comme le liquide clair

séparé par filtration des matières charbonneuses; l'arsenic y est précipité par l'hydrogène sulfuré. Tout le sulfure d'arsenic produit est transformé par l'acide nitrique en acide arsénique et ce dernier, précipité ensuite par la mixture magnésienne, est pesé sous forme de pyroarséniate de magnésium.

On trouve ainsi que les 200 cent. cubes de liquide Raulin atoxylé témoin renfermaient 0,085 gramme d'arsenic. C'est donc là la quantité d'arsenic offerte à l'*Aspergillus* qui s'est développé dans le ballon ensemencé.

Pour connaître la quantité d'arsenic contenue dans ce dernier, la culture achevée, on fera le dosage successivement dans le mycélium et dans le liquide sous-jacent.

Dans le mycélium desséché, brûlé dans la bombe, nous avons trouvé 0,0048 gramme d'arsenic et, dans le liquide sous-jacent, en conduisant l'analyse comme pour le liquide Raulin atoxylé témoin, nous en avons trouvé 0,0797 gramme; or :

$$0,0048 + 0,0797 = 0,0845$$

Donc le ballon renfermait 0,0845 gramme d'arsenic, c'est-à-dire précisément la même quantité, 0,085 gramme, qu'il contenait au début, à un demi-milligramme près.

Nous pouvons donc conclure que pendant le développement du champignon une quantité appréciable d'arsenic n'a pas été volatilisée dans l'atmosphère.

Reste à savoir si la plante en a fixé dans ses cellules. On ne peut regarder comme tels les 0,0048 gramme d'arsenic trouvés dans le mycélium sec, car ils comprennent évidemment l'arsenic du liquide de culture, qui mouillait au début le mycélium et s'est déposé sur lui au cours de la dessiccation. Le mycélium pesait, humide, 18.772 grammes et sec 1.552 grammes, la différence 18.772 — 1.552 = 17.220 représente le poids de l'eau évaporée, ou encore la somme des volumes de l'eau contenue dans les cellules et du liquide Raulin qui mouillait la plante; si ces 17.220 cent. cubes, avaient eu la même teneur en arsenic que ce liquide, ils auraient contenu 0,0094 gramme d'arsenic (1); or nous n'avons trouvé que 0,0048 gramme

(1) Le liquide de culture renfermant 0,0797 gramme d'arsenic avait un volume de 146 cent. cubes, donc 17.220 cent. cubes de ce liquide devaient renfermer $\frac{0.0797 \times 17.220}{146} = 0,0094$ d'arsenic.

d'arsenic dans le mycélium. Celui-ci n'a donc certainement pas accumulé d'arsenic dans ses cellules, il ne semble même pas en avoir fixé d'une manière notable. L'expérience ne nous permet pas d'être plus précis : pour avoir le droit d'affirmer qu'il n'y a pas eu la moindre fixation, il faudrait connaître le rapport du volume de l'eau imbibant les cellules à celui du liquide Raulin les mouillant extérieurement, et nous n'avons aucun moyen de déterminer ce rapport.

Quand nous aurons dit que les analyses ont porté sur une plante en culture depuis deux mois, n'ayant plus la turgescence d'une plante jeune, mais devenue molle et flasque comme les voiles d'*Aspergillus* ayant séjourné longtemps sur le liquide de culture, on trouvera ce résultat encore plus frappant. Les chiffres ci-dessus montrent avec la plus grande netteté que, même dans les cellules vieillies d'*Aspergillus*, le liquide qui imbibe le protoplasma n'a pas la même composition que celui sur lequel flotte la plante, et il semble que l'on puisse affirmer que la membrane des tubes mycéliens de l'*Aspergillus* est imperméable à l'arsenic de l'atoxyl ou tout au moins presque imperméable. Nous croyons devoir faire cette dernière restriction, parce qu'en présence d'atoxyl l'*Aspergillus* n'a pas sporulé; or il paraît bien difficile d'admettre que la seule présence d'arsenic dans le liquide Raulin, s'il n'a pas pénétré dans les cellules, ait empêché la sporulation.

Du reste, il ne faut pas oublier combien étaient faibles, dans les expériences rapportées plus haut, les quantités d'arsenic fixées dans le bacille tuberculeux et la levure; pour les raisons que nous avons indiquées, nous n'avons pas dosé par la méthode de Marsh l'arsenic dans l'*Aspergillus*; or la méthode de Levol est certainement beaucoup moins sensible que celle de Marsh perfectionnée par M. Bertrand, et il est aisé de se rendre compte que si l'*Aspergillus* avait fixé l'arsenic en aussi faible quantité que le bacille tuberculeux, nous n'aurions pu le constater par la méthode d'analyse que nous avons suivie. 1,552 gramme de mycélium aurait, en effet, contenu 0,06 p. 100 d'arsenic soit 0,001 gramme, nombre de même ordre de grandeur que les erreurs d'expériences.

Pour résumer en quelques mots ce qui a trait à la fixation de l'arsenic par la *Levure* et l'*Aspergillus*, nous pouvons dire

que, si elle est très faible mais incontestable pour celle-là, elle est nulle ou tout au plus très faible pour celui-ci. Au point de vue qui nous occupe, le bacille tuberculeux ne se sépare donc pas sensiblement de la *Levure* et de l'*Aspergillus*.

VI

Que conclure de toutes nos expériences?

Le bacille tuberculeux pousse très bien en présence de l'arséniate de soude et de l'atoxyl, un peu moins abondamment en présence du méthylarsinate de soude, plus difficilement en présence du cacodylate de soude; il fixe l'arsenic de l'arséniate de soude et de l'atoxyl.

En étudiant l'action des mêmes composés arsénicaux sur des cultures de *Bactéridies*, de *B. coli*, de *B. subtilis*, de *Levure*, d'*Aspergillus*, nous avons constaté que le bacille tuberculeux se comporte tantôt comme la *Levure* et l'*Aspergillus*, tantôt comme les bacilles, suivant le composé arsénical introduit dans le milieu de culture.

Quant à la question, que nous nous posions au début de ce travail, de savoir comment agit l'arsenic chez les tuberculeux, nous ne pouvons y répondre catégoriquement. Les bacilles qui ont fixé de l'arsenic ne semblent pas, d'après nos expériences, modifiés dans leur virulence, ni, d'après celles de Benario (1), douées de propriétés nouvelles. Il est donc probable que le cacodylate agit sur l'organisme tuberculeux en en augmentant la force de résistance; son action n'est d'ailleurs efficace, tout le monde le sait, que chez les individus qui résistent bien à la maladie; nous avons nous-mêmes reconnu avec M. E. Fernbach que les injections de cacodylate ne modifient en rien l'évolution de la maladie chez les cobayes inoculés avec des bacilles très virulents, quel que soit le moment où l'on commence le traitement.

(1) Kolle et Wassermann, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismus*, t. V, p. 626.

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE DES EAUX
LES BACILLES COLIFORMES

par

A. MANDOUL (1)
Médecin-major de 2° classe,
Directeur du Laboratoire
du IX[e] Corps d'armée.

E. GRUAT
Préparateur au Laboratoire
de Bactériologie
du IX[e] Corps d'armée.

(Travail du Laboratoire de Bactériologie du IX[e] Corps d'armée, à Tours.)

LA NOTION DES BACILLES COLIFORMES

Appliquant depuis quelques années la méthode préconisée par M. le professeur Vincent pour la recherche et l'identification du colibacille dans les eaux, nous avons pu isoler et étudier un certain nombre d'espèces de bacilles mobiles, ne prenant pas le Gram, non chromogènes, poussant en quelques heures sur bouillon, même en présence d'une faible dose d'acide phénique et à la température de 41°5. Il ne s'agit incontestablement pas d'une espèce univoque, mais il y a un certain lien de parenté entre tous ces germes. Tous ressemblent plus ou moins au colibacille qui est le prototype de ce groupe, mais ils en diffèrent suivant les cas par l'apparition d'une propriété nouvelle ou par l'absence d'une des propriétés classiques de ce bacille.

Aussi la dénomination de bacilles coliformes, qui ne préjuge en rien de leur nature, nous paraît leur convenir. Nous apportons simplement des faits, sans nous lancer en vain dans des

(1) M. le médecin-major A. Mandoul a été tué, vers le 10 novembre 1914. Il était en mission avec M. le Médecin-major Dorland, attaché à la Direction du IX° Corps et se rendait à Ypres, en automobile, pour y chercher des blessés, lorsqu'il fut atteint d'un éclat d'obus à la tête.

M. A. Mandoul, qui avait suivi les cours de l'Institut Pasteur dans l'année 1909-1910, avait débuté dans la bactériologie par une thèse de doctorat en médecine intitulée : *Bacille de Koch et séméiologie de la tuberculose pulmonaire*. Lyon, 1906.

considérations trop longues et inutiles sur les limites plus ou moins théoriques de l'espèce « bacille du côlon ».

Nous espérons simplement mettre en lumière dans ce travail toute l'importance que nous paraît présenter la notion des bacilles coliformes dans l'appréciation bactériologique d'une eau de boisson.

Caractères morphologiques et biologiques des bacilles coliformes.

A. — Morphologie.

Il s'agit le plus souvent de bacilles courts de 1 à 2 μ, quelquefois plus longs dans les vieilles cultures. Les bacilles ont une mobilité propre différente du mouvement brownien que l'on peut constater facilement en examinant la culture à l'état frais. (La mobilité est nulle pour les germes cultivés en milieu phéniqué.)

Ils ne sont pas sporulés.

Si l'on s'adresse à des cultures jeunes de seize à vingt heures sur gélose, on peut arriver à mettre quelques cils en évidence. Ceux-ci ne sont jamais aussi nombreux que ceux du bacille typhique.

Au point de vue de la coloration, ces germes se colorent bien par toutes les couleurs basiques d'aniline, mais se décolorent par la méthode de Gram.

B. — Cultures.

1° *Conditions thermiques.* — Les bacilles coliformes poussent à des températures très variables. La végétation se fait fort bien à 41°5, elle se fait aussi à la température relativement basse de 10 degrés. Mais la température optima est incontestablement celle de 37 à 38 degrés centigrades : dans ces conditions, le germe a déjà donné une culture peu visible, mais assez abondante pour être repiquée, après cinq à six heures. Au bout de douze heures, le bouillon est trouble. La vitesse de multiplication rend relativement facile l'isolement des coliformes d'avec les autres germes, avec lesquels ils sont mélangés dans le milieu ambiant.

2° *Conditions générales de culture.* — D'une façon générale, ces bacilles sont aérobies facultatifs, ils sont susceptibles de se développer en l'absence d'oxygène. La résistance aux antiseptiques est assez marquée, surtout pour l'acide phénique.

3° *Cultures en bouillon ordinaire.* — A 38 degrés, au bout de cinq heures, la culture en bouillon ne présente aucun trouble appréciable : elle est déjà repiquable. Après huit heures, on constate l'apparition d'ondes moirées caractéristiques. Après douze heures, le trouble est uniforme. Il ne se produit pas d'aérobie, ni de dépôt dans le fond du tube à moins qu'il ne s'agisse d'une culture déjà vieille.

4° *Culture sur gélose.* — Les cultures sont typiques au bout de dix à douze heures : Les colonies sont réfringentes et transparentes, les contours sont ovales ou anguleux et n'appartiennent jamais à une même circonférence.

Examinées à la loupe, elles présentent l'aspect classique dit en iceberg ou en montagne de glace.

5° *Culture sur pomme de terre.* — L'aspect en est très polymorphe; quelquefois la culture présente une couche mince et vernissée, tantôt elle est abondante et exubérante avec un reflet plus ou moins jaunâtre, tantôt elle est nettement blanche.

C. — Caractères fermentifs spéciaux.

1° *Peptonisation de la gélatine.* — Cette recherche est de toute importance et servira à diviser en deux grands groupes les bacilles coliformes. L'ensemencement se fait en piqûre, et la gélatine au Liebig ou au bouillon de viande sera employée de préférence.

Dans certains cas on observera une liquéfaction précoce de la 24e à la 48e heure. Le plus souvent, cette liquéfaction manque. Mais il est des cas fort embarrassants où le germe classé d'abord comme non liquéfiant n'a peptonisé la gélatine que vers le 15e ou même le 20e jour. Ce n'est donc que par une observation très prolongée que l'on peut arriver à faire le partage des deux groupes de nos coliformes.

La liquéfaction de la gélatine est actuellement considérée comme un caractère primordial, dans la classification bactériologique. Les faits qu'il nous a été donné d'observer font perdre

à ce caractère toute sa valeur, si le diagnostic est fait hâtivement. Est-ce un caractère aussi primordial, aussi absolu qu'on veut bien le dire? ou bien n'est-ce pas un caractère secondaire et contingent?

2° *Production de l'indol.* — L'indol doit être recherché dans des cultures en eau peptonée après quarante-huit heures; il faut s'assurer préalablement que la peptone employée ne donne pas spontanément de l'indol. Bien des procédés ont été préconisés pour déceler l'indol, mais celui qui nous paraît préférable est le suivant :

Epuiser la culture par l'éther, décanter l'éther surnageant et y ajouter quelques gouttes de solution alcoolique à 1/50e de diméthylamidobenzaldéhyde. L'addition d'une à deux gouttes d'HCl fait disparaître un anneau rouge violet intense en présence de l'indol.

Un grand nombre de bacilles coliformes produisent de l'indol. Notre pratique actuelle nous fait attacher une grande valeur à cette recherche. Ce caractère ne s'altère pas par suite des repiquages successifs que subissent les germes pour être conservés.

Nous sommes donc là en présence d'un caractère d'espèce des plus fixes qu'il nous ait été donné de trouver en bactériologie.

3° *Réaction du Neutral-Roth.* — Il s'agit encore là d'une réaction constante et caractéristique des échantillons microbiens qui la présentent. Le neutral-roth sert à colorer le bouillon, qui doit être légèrement acide, car le colorant est précipité par l'alcalinisation. Soit un tube de bouillon au rouge neutre ensemencé avec un bacille du groupe coliforme ; trois cas peuvent se présenter :

a) Apparition d'une teinte jaune canari, fluorescente (réaction typique) ;

b) Précipitation de cristaux rougeâtres en rapport avec l'alcalinisation (sans signification) ;

c) Pas de changement (réaction négative).

L'addition de glucose au bouillon, préconisée par Savage, est utile, car la fermentation de ce sucre maintient constante l'acidité du milieu de culture et empêche ainsi la cause d'erreur due à l'alcalinisation du milieu.

4° *Fermentation des sucres.* — Au début de nos recherches,

nous avons espéré établir une loi de fermentation des différents sucres. Nous avons étudié, à ce point de vue, le lactose, le saccharose, le lévulose, le maltose et le glucose. Nous avions même noté que certains échantillons de paratyphique A font fermenter le maltose plus que le glucose : mais les phénomènes d'adaptation des germes au milieu, la constatation de fermentations tardives, la variabilité des propriétés fermentatives des germes conservés à notre collection sont venus nous montrer que toute loi serait illusoire. Pour nos recherches nous avons adopté conventionnellement le délai de quarante-huit heures, pour la constatation des phénomènes fermentatifs. L'absence de fermentation constatée au bout de deux jours nou fait donner un résultat négatif.

Deux méthodes utilisant les milieux liquides sont en pré sence pour révéler les fermentations :

1° La méthode des bouillons sucrés et carbonatés.

2° La méthode des bouillons sucrés tournesolés.

Dans la première, la production de gaz CO^2 est le signe de la fermentation. L'inconvénient de ce procédé est son peu de sensibilité. Si CO^2 est produit en petite quantité, il se dissout.

La deuxième, au contraire, est notre méthode préférée. En dehors de toute fermentation, le milieu reste bleu. Dans certains cas, l'alcalinité augmente et la couleur bleue devient plus foncée, comme par exemple avec le *Bacillus fecalis alcaligenes*. Lorsque la fermentation se produit, trois éventualités peuvent se présenter :

L'apparition d'une teinte rose ou rouge,
La décoloration de la teinture de tournesol,
Le phénomène curieux du caméléonage (le milieu d'abord bleu vire au rouge, puis au bleu).

Pour avoir des résultats précis, il est indispensable d'opérer avec un bouillon assez fortement alcalin.

Le sucre le moins facilement attaquable est certainement le lactose, puis le saccharose. Mais certains germes font fermenter le lactose et non le saccharose, d'autres inversement, d'autres les deux à la fois. Le glucose et le maltose sont ceux dont la fermentoscibilité paraît la plus grande.

D. — Propriétés biologiques des coliformes.

Nous avons fait l'essai de la virulence de nos divers germes coliformes vis-à-vis du lapin. La plupart se sont montrés tout à fait inoffensifs, tant en injection intraveineuse que intrapéritonéale. Nous avons étudié, surtout dans le but d'en déterminer l'origine, l'agglutinabilité par le sérum antityphique, par le sérum normal de bœuf. Nous reviendrons plus loin sur les résultats individuels de cette recherche pour les différents germes.

Coagglutination typhique. — La recherche s'est montrée constamment négative pour les germes extraits de l'eau. Au contraire, le sérum normal de bœuf s'est montré agglutinant pour certains coliformes des eaux.

Rôle biologique des coliformes.

Le rôle que remplissent les coliformes dans la nature est considérable; ces germes contribuent à la dislocation de la molécule azotée, mais ils n'attaquent pas la molécule entière, réservant leur action pour ses produits d'hydrolyse, les peptones.

Ils détruisent aussi les composés ternaires dérivant du clivage de la molécule primitive.

Aussi, sont-ils associés à d'autres ferments dont ils complètent l'action, ferments pancréatiques dans le tube digestif, microbes anaérobies dans la nature. L'association des coliformes et des anaérobies constitue une symbiose révélant la matière organique d'origine animale dans une eau. La présence d'anaérobies seuls serait un indice de matière organique végétale.

CLASSIFICATION GÉNÉRALE DES COLIFORMES

Pour établir une classification bactériologique des bacilles coliformes, il nous a fallu choisir un certain nombre de caractères que nous avons classés par ordre d'importance. Ces caractères sont au nombre de cinq, ce sont :

1° Peptonisation de la gélatine ;
2° La production de l'indol ;
3° La modification du rouge neutre ;
4° La fermentation du lactose ;
5° Celle du saccharose.

L'action sur la gélatine divise nos coliformes en deux grands groupes : les germes non liquéfiants et les liquéfiants. Les premiers constituent le groupe du coli et les seconds celui du proteus. Les germes de la première catégorie seront désignés par l'initial C; ceux de la deuxième par l'initiale P. La désignation des espèces ou races se fera en faisant suivre l'initiale C ou P, de la première lettre de tous les caractères positifs que présente le germe donné, dans l'ordre indiqué plus haut (indol rouge, neutre, lactose, saccharose). Ainsi le *Bacillus coli* commun qui ne liquéfie pas la gélatine, produit de l'indol, vire le rouge neutre, fait fermenter le lactose et non la saccharose, s'énoncera CIRL.

Le germe liquéfiant superposable s'énoncerait PIRL. Ces données rendront facile la lecture du tableau suivant ; on comprendra facilement que les espèces théoriquement possibles seraient plus nombreuses que celles indiquées ; mais nous nous sommes tenus strictement aux espèces que nous avons isolées des eaux, des purins, des matières fécales, des urines.

	GÉLATINE	INDOL	ROUGE NEUTRE	LACTOSE	SACCHAROSE
CIRLS. . .	0	+	+	+	+
CIRL . . .	0	+	+	+	0
CIRS. . . .	0	+	+	0	+
CILS. . . .	0	+	0	+	+
CIL	0	+	0	+	0
CRLS . . .	0	0	+	+	+
CLS	0	0	0	+	+
C	0	0	0	0	0
PIRLS. . .	+	+	+	+	+
PIRL . . .	+	+	+	+	0
PIRS. . . .	+	+	+	0	+
PILS. . . .	+	+	0	+	+
PIL	+	+	0	+	0
PIS	+	+	0	0	+

Le colibacille proprement dit est défini par les quatre premiers caractères : absence de liquéfaction de la gélatine, production de l'indol, virage du bouillon au rouge neutre, fermentation du lactose, et comprend deux variétés suivant qu'il y a ou non fermentation du saccharose.

Les autres espèces non liquéfiantes constituent les paracolibacilles dont nous avons isolé six variétés : CIRS — CILS — CIL — CRLS — CLS — C.

Pour le moment les colibacilles et les paracolibacilles retiendront seuls notre attention.

NE LIQUÉFIANT PAS LA GÉLATINE	Production de l'indol.	*Le rouge neutre vire au jaune canari.*	Fermentation du lactose et du saccharose CIRLS.
			Fermentation du lactose seul CIRL.
			Fermentation du saccharose seul CIRS.
		Sans action sur le rouge neutre.	Fermentation du lactose et du saccharose CILS.
			Fermentation du lactose seul CIL.
	Ne produit pas d'indol.	*Agit sur le rouge neutre* et fait fermenter le lactose et le saccharose CRLS.	
		Sans action sur le rouge neutre et fait fermenter le lactose et le saccharose CLS.	
		Sans action sur le rouge neutre, ne fait pas fermenter le lactose et le saccharose C.	
LIQUÉFIANT LA GÉLATINE	Produit de l'indol.	*Action sur le rouge neutre.*	Fermentation du lactose et du saccharose PIRLS.
			Fermentation du lactose seul PIRL.
			Fermentation du saccharose seul PIRS.
		Sans action sur le rouge neutre.	Fermentation des deux sucres PILS.
			Fermentation du lactose seul PIL.
			Fermentation du saccharose seul PIS.
	Ne produit pas d'indol.		

On remarquera que, dans le tableau précédent, nous avons laissé de côté les germes liquéfiants ne produisant pas l'indol; c'est que ces germes s'éloignent par trop de la définition que nous avons donnée des coliformes : ils poussent surtout à froid, ne donnant pas de culture à 41°5 en présence de l'acide phénique, sont peu mobiles ; le type en est le *Bacillus albus liquefaciens*. Dans certaines circonstances, ces germes acquièrent des propriétés chromogènes et c'est ainsi que nous arrivons au *B. flavus liquefaciens* et même au *B.* fluorescent liquéfiant.

ÉTUDE PARTICULIÈRE DES COLIBACILLES ET DES PARACOLIBACILLES

I. — Colibacilles CIRLS.

Définition. — Bacille mobile ne prenant pas le Gram, non sporulé, non chromogène, ne liquéfiant pas la gélatine, produisant de l'indol, faisant virer le rouge neutre, provoquant la fermentation de tous les sucres (lactose et saccharose compris) et coagulant le lait.

Autres caractères. — Ce germe ne présente pas de coagglutination avec le sérum antityphique fourni par l'Institut Pasteur. Nous avons simplement noté une agglutination très faible avec le sérum normal de bœuf. Les cils sont rares et difficilement colorables.

Variétés. — Nous distinguons deux variétés suivant que la teinture de tournesol est décolorée ou non.

Habitat. — Ce germe est très fréquent, d'où le nom de *Bacillus coli communior* qui lui a été donné. C'est le *coli* typique des matières fécales. On le trouve aussi dans les eaux souillées.

II. — Colibacilles CIRL.

Définition. — Ce germe ne diffère du précédent que par l'absence de fermentation du saccharose, c'est le *Bacillus coli communis* des auteurs.

Ses cils sont rares et difficilement colorables.

Pas d'agglutination avec le sérum antityphique, mais agglutination très légère avec le sérum normal de bœuf.

Habitat. — Nous n'avons pas rencontré ce germe dans les matières fécales, où il est plus rare que l'espèce précédente. Il existe le plus souvent dans l'eau, d'où nous avons extrait les quelques échantillons de notre collection.

III. — Paracolibacilles CILS.

Définition. — Bacille mobile, non sporulé, ne prenant pas le Gram, non liquéfiant, non chromogène, produisant de l'indol, faisant fermenter tous les sucres, mais inactif vis-à-vis du rouge neutre.

Ce germe n'est pas agglutiné par le sérum antityphique ni par le sérum normal de bœuf.

Habitat. — Ce paracolibacille a été rencontré par nous dans les eaux, les matières fécales et les urines. Il s'agit le plus souvent d'un germe d'origine humaine.

IV. — Paracolibacille CIRS.

Ce germe, qui produit de l'indol, fait virer le rouge neutre, mais est inactif vis-à-vis du lactose. Le saccharose et les autres sucres fermentent. Ce germe n'est dans aucun cas agglutiné par le sérum antityphique; mais suivant son origine nous avons constaté des différences curieuses dans le pouvoir agglutinatif du sérum normal de bœuf. Le germe d'origine hydrique est nettement agglutiné, celui provenant de matières fécales humaines n'est pas agglutiné. Nous estimons que le germe trouvé dans les eaux est vraisemblablement d'origine bovine et non humaine.

Au point de vue des cils, nous avons constaté des différences, le bacille humain est muni d'un seul cil très long, le bacille hydrique, au contraire, n'en possède pas.

V. — Paracolibacille CIL.

Bacille mobile produisant de l'indol, ne liquéfiant pas la gélatine, inactif vis-à-vis du rouge neutre, provoquant la fermentation du lactose et non celle du saccharose.

Ce germe a été isolé des eaux, des fèces, de l'urine; dans aucun cas nous n'avons constaté d'agglutination ni par le sérum antityphique ni par le sérum de bœuf normal. Nous n'avons pas non plus constaté de cils dans les divers échantillons de ce genre à notre disposition.

VI. — Paracolibacille CRLS.

Il s'agit d'un germe différent de tous les précédents par la non-production de l'indol. Il est assez voisin du paratyphique *B* qui, lui, ne fait pas fermenter le saccharose.

Nous avons rencontré cette espèce dans les eaux, mais aussi dans le sang d'un malade présentant un état typhique, d'ailleurs terminé par la guérison.

Il y a des différences entre ce germe suivant ses origines hydrique ou sanguine, comme l'indique le tableau suivant.

	AGGLUTINATION par sérum antityphique	SÉRUM normal de bœuf	CILS
Germe des eaux.	Négative.	Négative.	Absents.
Germe du sang.	Positive.	Négative.	Cils assez nombreux.

Le pouvoir d'agglutination de ce germe par le sérum antityphique est moins intense que celui du paratyphique *B* pour lequel la coagglutination se fait à 1/100.

VII. — Paracolibacille CLS.

Il s'agit encore d'un germe ne produisant pas l'indol, inactif sur le rouge neutre, mais faisant fermenter les sucres. Les échantillons de notre collection proviennent soit des matières fécales, soit des purins. Le germe d'origine fécale nous a paru très agglutinable, tant par le sérum antityphique que par le sérum de bœuf; celui émanant des purins, au contraire, n'est pas agglutiné.

VIII. — Paracolibacille C.

Nous arrivons maintenant au germe des eaux qui se rapproche le plus de l'Eberth. Le tableau suivant établit le parallèle de ces deux germes.

	BACILLE	LONGUEUR	GRAM	GÉLATINE	INDOL	ROUGE NEUTRE	SUCRE	CILS	SÉRUM anti-typhique	SÉRUM normal (bœuf)
Eberth.	Mobile.	2 à 4 μ.	—	Non liquéfiée.	0	0	0	8	Agglutiné.	Faiblement agglutiné.
Paracolibacille C.	Mobile.	2 à 4 μ.	—	Non liquéfiée.	0	0	0	Pas de cils.	Non agglutiné.	Non agglutiné.

LES BACILLES COLIFORMES DES EAUX

I. — Concurrence vitale de l'Eberth et du coli.

Lorsque le bacille typhique et le colibacille se trouvent mélangés, il est pour ainsi dire impossible au bactériologiste d'isoler le premier. Cela tient aux raisons suivantes : ces deux germes ont les mêmes conditions de culture ; ils poussent facilement l'un et l'autre même en présence de l'acide phénique, même à 41°5. D'autre part, les diverses substances que l'on peut ajouter au milieu pour sélectionner les germes ne laissent subsister que le germe le plus viable, le plus résistant : le colibacille. Cela nous paraît un contresens de mettre en concurrence vitale le colibacille et l'Eberth sur des milieux dysgéniques. Il est évident que le colibacille l'emportera toujours.

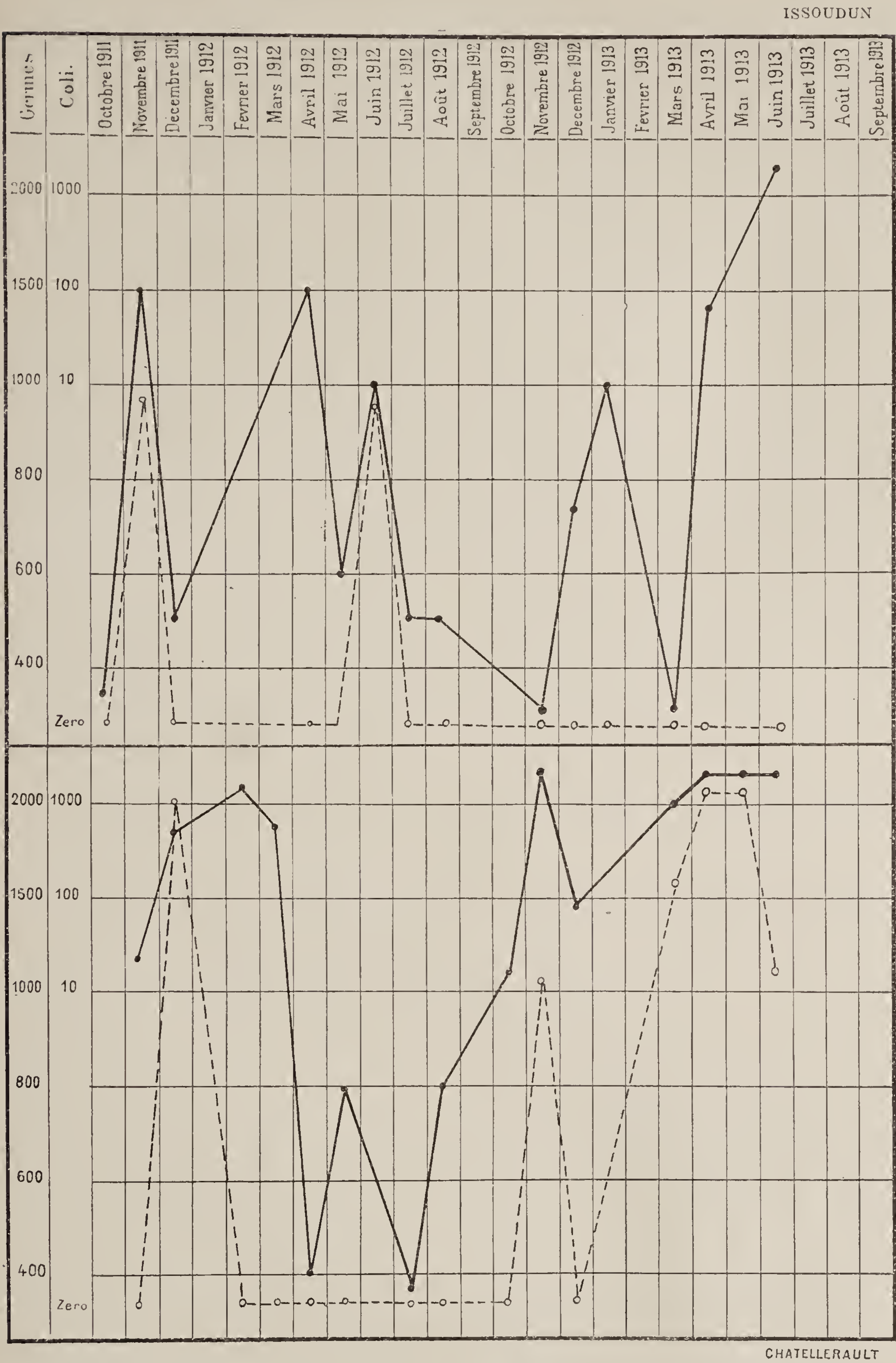
La méthode basée sur la séparation des deux bacilles par l'agglutination est simple en théorie, mais elle ne tient pas compte des coagglutinations intéressant aussi le coli ; aussi ne peut-elle donner de résultat que si le bacille typhique est notablement plus abondant.

Toutes les méthodes employées jusqu'à ce jour ont donné quelques résultats positifs, mais toutes sont inconstantes. On est donc réduit à la recherche et au dosage des colibacilles considérés comme des témoins de la présence possible de l'Eberth. Mais l'adaptation au milieu ambiant, si différent du milieu organique au point de vue thermique et nutritif, déforme le colibacille, en modifie les caractères ; d'où l'utilité pratique de la notion des coliformes, d'autant plus grande que toute la série pathogène, ne produisant pas d'indol, n'est pas adaptable en dehors de l'organisme humain et que les coliformes qui s'en rapprochent sont le plus souvent inoffensifs et d'origine animale.

II. — Les coliformes des eaux de surface.

Dans les eaux de surface, source, rivière, fleuve, on trouve le plus souvent les colibacilles vrais, *communis* et *communior*.

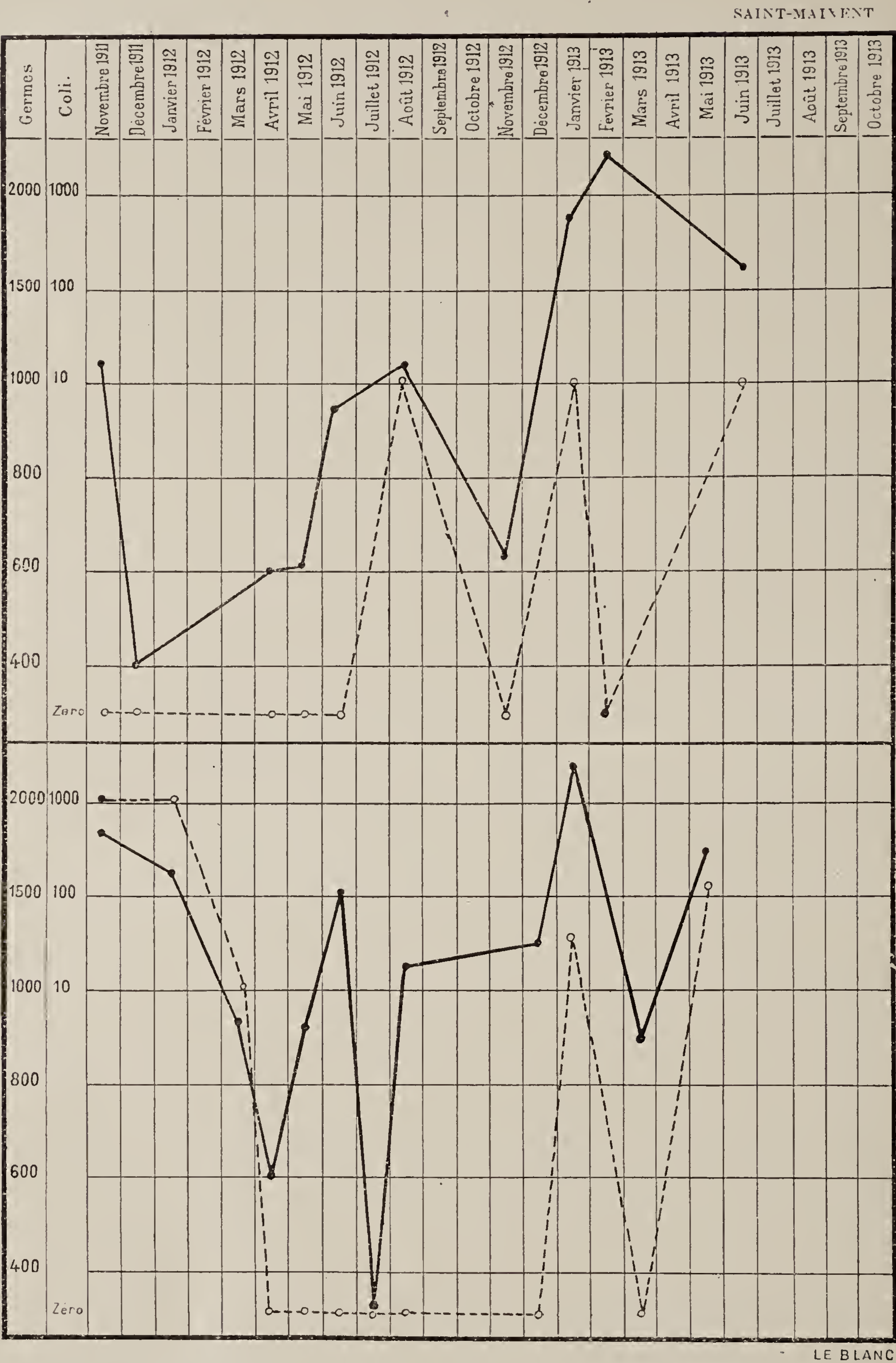
La cause de l'apparition de ce germe est incontestablement le



Courbes des examens bactériologiques des eaux brutes des garnisons d'Issoudun et Chatellerault.

déversement des eaux pluviales souillées dans les cours d'eau.

Enoncer ce fait, c'est dire que la constatation du colibacille



Courbes des examens bactériologiques des eaux brutes des garnisons de Saint-Maixent et Le Blanc.

répondra aux périodes de pluie et d'eaux troubles. La courbe

de ce germe sera donc saisonnière. En même temps, le nombre des autres germes s'élèvera d'une façon massive. D'autre part, la souillure étant due aux lavages des surfaces, il n'y aura que fort peu d'anaérobies. Pour se rendre compte de ces faits, il suffit de comparer les tableaux ci-dessus (p. 471 et 472) des principales garnisons de notre corps d'armée alimentées en eau de rivière. [(La numération des colibacilles a été faite selon la méthode de notre maître, M. le professeur Vincent (1)].

Nous pourrions fournir à l'appui de notre démonstration d'autres graphiques, mais ils n'apporteraient aucun fait nouveau.

Tous nous permettent de constater :

1° Que, dans les eaux de surface, toute élévation dans le taux du coli répond à une élévation parallèle et proportionnelle du germe total des germes aérobies;

2° Qu'à un degré léger d'infection, le nombre des germes peut s'élever sans que le colibacille apparaisse;

3° Que la présence du colibacille est intermittente et répond à des circonstances soit saisonnières, soit météorologiques (orages et crues par exemple).

III. — Les coliformes dans les eaux souterraines.

Dans les eaux de surface nous avons constaté le parallélisme du taux du colibacille avec celui des germes aérobies en général. Dans les eaux des puits ce rapport est souvent en défaut : mais, par contre, il y a un rapport étroit entre la teneur d'une eau en bacilles coliformes et la teneur de cette même eau en bacilles anaérobies. C'est que, dans les fosses, loin de l'air atmosphérique, se constitue une symbiose bactérienne entre les anaérobies, ouvriers de la première heure dans la dislocation de la molécule organique, et les bacilles anaérobies facultatifs qui utilisent les produits du premier élevage.

Notre attention s'est surtout portée sur l'eau de puits voisins de fosses d'aisance. Pour faire comprendre toute la portée de ces recherches, nous allons citer deux cas concrets, concernant des casernes de gendarmerie en campagne.

(1) *Annales d'Hygiène générale et appliquée*, février 1909.

Premier exemple. — Une petite épidémie typhique éclate au mois de juillet 1913, à la caserne de gendarmerie de Clan dans la banlieue de Poitiers. 3 cas se produisent chez les enfants. Nous étant rendus sur les lieux pour procéder à la vaccination et à une enquête épidémiologique, nous n'avons pas tardé à nous rendre compte que le puits de la gendarmerie se trouvait à moins de 5 mètres d'une fosse d'aisance non étanche appartenant à une maison voisine.

Un cas de fièvre typhoïde s'était produit dans la maison en question en 1912.

Les malades avaient bu de l'eau du puits : l'origine de cette petite épidémie était manifestement hydrique. L'examen bactériologique a mis en évidence, au taux de 1.000 germes par litre, un bacille mobile, ne prenant pas le Gram, produisant de l'indol, faisant virer le rouge neutre et fermenter les sucres, mais liquéfiant la gélatine, répondant par conséquent à notre formule PIRLS; aucune trace de coli vrai. Mais par contre de très nombreux anaérobies stricts (une vingtaine par centimètre cube), odeur putride des cultures. La désinfection du puits est restée sans effet, le puits recevant des infiltrations de la fosse selon toute probabilité.

Deuxième exemple. — Nous avons été appelés à expertiser l'eau du puits de la gendarmerie de Neuilli-Pont-Pierre, dans les environs de Tours. Mise en évidence du même germe PIRLS en compagnie de nombreux anaérobies. Le curage et la désinfection du puits n'ayant pas modifié la valeur de l'eau, nous procédons sur place à une enquête méticuleuse. Nous apprenons que la fosse d'aisance, située à 25 mètres, présente, quoique cimentée, des variations de niveau suivant les saisons. L'épreuve de la fluorescéine, que nous pratiquons alors en introduisant dans cette fosse 5 grammes de cette substance, nous démontre que la fosse contamine l'eau du puits, car dès le lendemain soir celle-ci présente la teinte verte fluorescente.

C'est le deuxième exemple d'eau de puits contaminée par une fosse d'aisance ne contenant pas de coli vrai, mais un coliforme liquéfiant la gélatine et de nombreux anaérobies.

Ces constatations vont nous permettre à l'avenir de considérer comme souillée toute eau contenant l'association de coliformes liquéfiants et d'anaérobies.

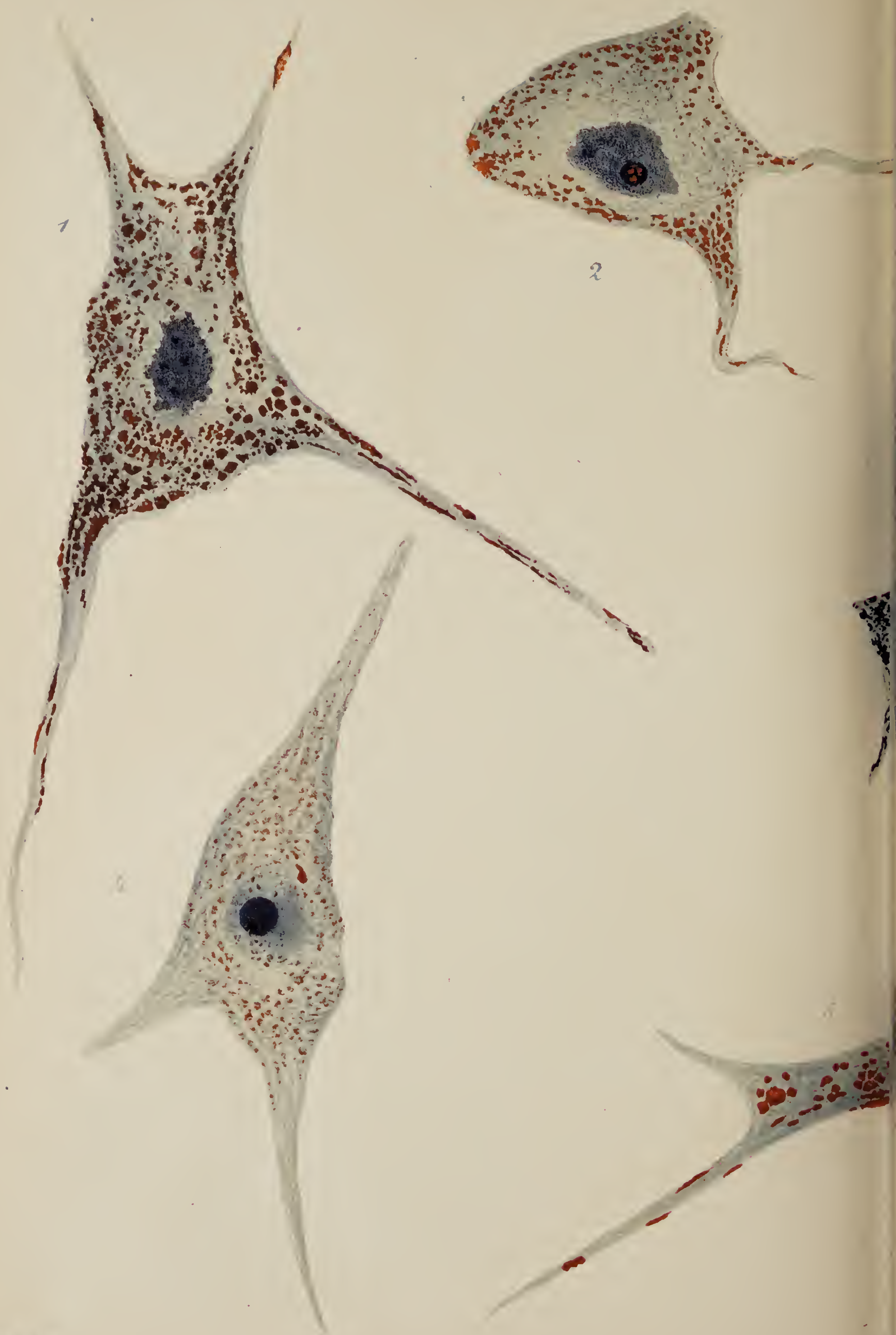
IMPORTANCE PRATIQUE DE LA NOTION DU COLIFORME

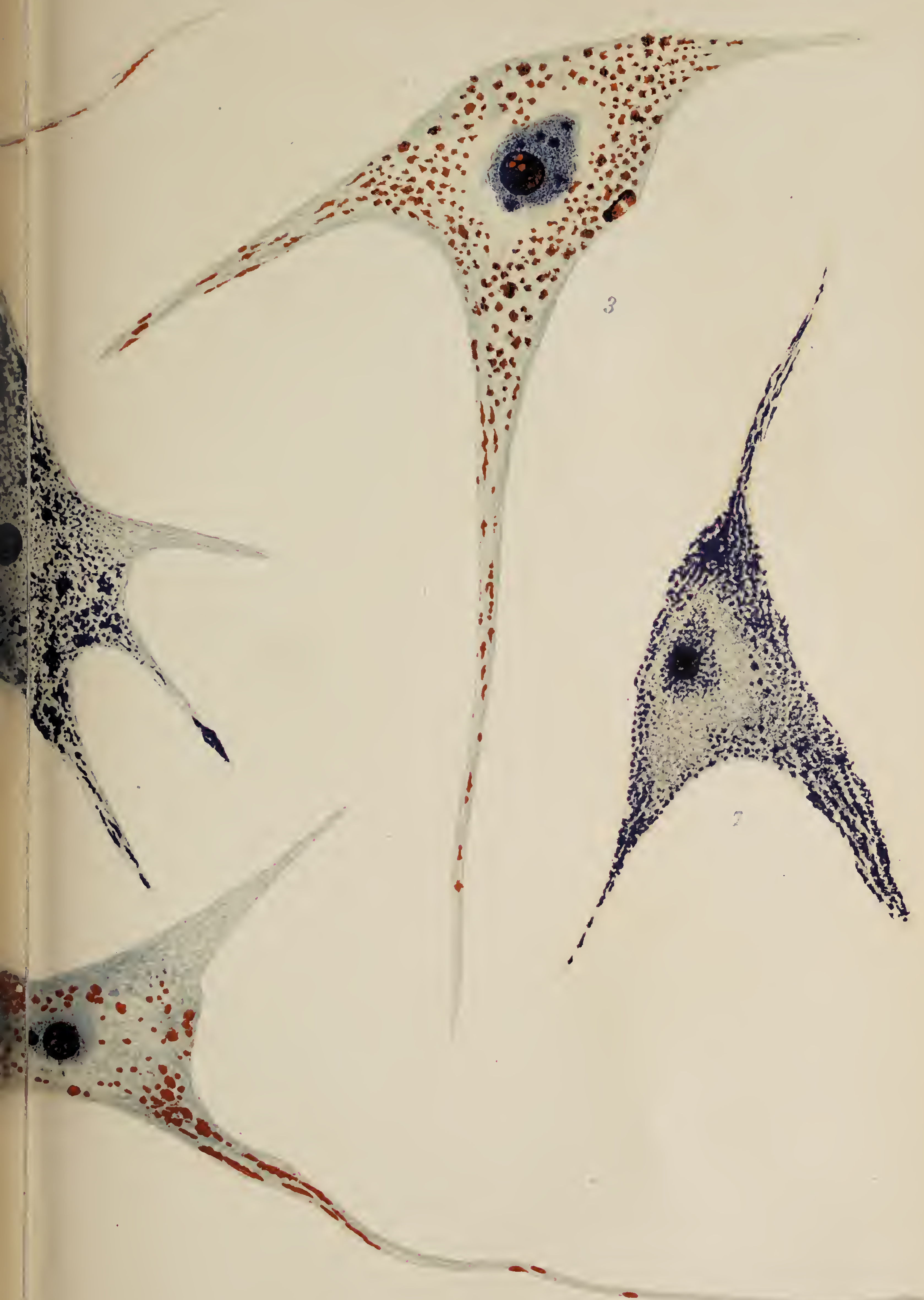
Il ressort des considérations précédentes que la constatation de la présence ou de l'absence du colibacille, pour si importante qu'elle soit dans l'appréciation bactériologique d'une eau, ne doit pas faire oublier les autres facteurs, notamment la présence de tous les bacilles produisant de l'indol, même liquéfiant la gélatine, et celle des anaérobies.

S'il nous faut renoncer au fallacieux espoir de trouver dans l'eau des espèces pathogènes, nous devons au moins nous attacher à y déceler la flore fécale humaine dont le coli ne présente qu'une seule espèce, flore comprenant tout un groupe de germes ayant comme caractères communs de produire l'indol, de faire virer le rouge neutre, se comportant d'une façon variable vis-à-vis de la gélatine et des sucres, alors que les espèces voisines d'origine animale ne produisent pas d'indol, ne virent pas le rouge neutre et sont souvent agglutinables par les sérums normaux de bœuf ou de cheval.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.


1
2


3
7



Budin del.

Constantin lith.

Imp. L. Lafontaine.

29e ANNÉE OCTOBRE 1915 N° 10

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

LA MORT DU PAPILLON DU MURIER

UN CHAPITRE DE THANATOLOGIE

par Él. METCHNIKOFF.

(Avec les planches X et XI.)

Le fait que la mort est souvent redoutée, comme un épouvantail que l'on n'ose pas regarder en face, est sans doute une des causes de l'ignorance de la science sur tout ce qui la concerne. Lorsqu'on est en présence d'un moribond, ce n'est pas un homme de science ni un médecin, mais un serviteur de l'Église que l'on appelle.

Ce n'est que dans ces dernières années que l'on a commencé à étudier les phénomènes de la mort au point de vue scientifique. Marinesco (1) dit très justement « que l'évolution de nos connaissances relatives au problème de la mort naturelle a suivi la fameuse loi des trois états d'Auguste Comte ; l'âge théologique, puis l'âge métaphysique et enfin l'âge de la science positive ». Seulement je ne partage pas son opinion lorsqu'il pense que les travaux récents de plusieurs auteurs et les siens entre autres, rentrent dans la troisième catégorie. En effet, dans son article sur « le problème de la mort naturelle », de même que dans une brochure de Ribbert (2) sur « la mort par

(1) *Revue scientifique*, 30 mai 1914, p. 673.
(2) *Der Tod aus Altersschwäche*. Bonn, 1908.

la débilité sénile » et dans plusieurs autres publications analogues, on cherche vainement la base scientifique de leurs déductions. Quels sont les cas de mort naturelle qu'ils ont pu soumettre à leurs investigations? Il est question dans tous ces travaux d'altérations que l'on observe chez de vieux hommes ou de vieux animaux supérieurs (mammifères et oiseaux), examinés après leur mort. Mais s'agissait-il dans ces cas d'exemples de véritable mort naturelle? Rien ne le prouve dans l'exposé des auteurs en question, ce qui fait supposer qu'ils avaient affaire aux cadavres, dont les altérations étaient dues aux maladies chroniques ou aiguës qui tuent les vieillards (pneumonie, tuberculose, tumeurs malignes, maladies du cœur et des vaisseaux). Les idées basées sur de pareils faits rentrent dans le domaine de spéculations plutôt métaphysiques que vraiment scientifiques. Dans cette catégorie doit être rangée la théorie de Marinesco d'après laquelle la vieillesse et la mort seraient dues à la déshydratation des colloïdes. Bien que, au bout du compte, tous les phénomènes organiques doivent un jour se réduire à des processus physico-chimiques, pour le moment il est impossible de préciser leur mécanisme. Lorsque Marinesco, en faveur de sa thèse, cite la déshydratation du cerveau de l'homme adulte par rapport à celui du fœtus, il oublie que le premier est infiniment supérieur au second au point de vue fonctionnel. La déshydratation très considérable du cerveau de l'adulte ne l'empêche pas de remplir un rôle qui ne peut être comparé même de loin à l'affaiblissement intellectuel de la sénilité.

M'étant proposé d'étudier la mort naturelle chez des animaux supérieurs, je me suis adressé aux rats et souris domestiques, dont le cycle vital est notoirement très bref : on leur attribue une longévité de trois à cinq ans. Or on ne réussit que très rarement à les garder aussi longtemps. Au bout d'un an à dix-huit mois les rats manifestant des signes visibles de vieillesse, mouraient avant d'atteindre leur fin naturelle. Dans l'immense majorité des cas leur mort était occasionnée par des abcès pulmonaires, provoqués par des diplocoques. Il m'est arrivé récemment de garder une souris vivante pendant trois années. Elle est morte d'une infection généralisée par plusieurs espèces bactériennes.

Je me range à l'opinion de Oscar Bloch (1) qui met en doute l'existence de la mort naturelle dans l'espèce humaine. Lorsqu'on pense que l'homme qui a vécu le plus longtemps, Thomas Parr, mort âgé de 152 ans et 9 mois (2), succomba à une maladie intestinale, occasionnée par un repas très copieux, on se décidera difficilement à accepter comme « mort naturelle » les exemples de longévité beaucoup moindre.

Par la mort naturelle il ne faut pas, bien entendu, comprendre les cas considérés comme tels par la médecine légale qui les distingue des cas de mort violente. Tous les exemples de mort accasionnés par les maladies rentreraient dans la catégorie de mort naturelle. Autrefois les maladies paraissaient comme quelque chose de tellement inévitable qu'on n'hésitait pas à les prendre pour un phénomène normal. Claude Bernard (3) citait parmi « les caractères généraux des êtres vivants : l'organisation, la génération, la nutrition, l'évolution, la caducité, la mort et la *maladie* ». Étant donné qu'un assez grand nombre de maladies sont devenues beaucoup plus rares et tendent même à disparaître dans certains pays (lèpre, peste humaine, fièvre récurrente, typhus exanthématique), il n'est pas téméraire de supposer qu'avec les progrès de la médecine, progrès incontestables bien que lents, les maladies dans l'avenir ne présenteront plus l'extension que nous voyons actuellement. Dans ces conditions, le problème de la mort vraiment naturelle, comme terme de la vie normale, prendra une réelle importance.

Il est donc intéressant de poser d'abord cette question : la mort naturelle existe-t-elle dans la nature? Sans parler des plantes, il est indéniable que dans le monde animal des exemples d'une pareille fin du cycle normal de la vie existent réellement. Comme mort naturelle, nous entendons, avant tout, la mort des êtres dont l'organisation est incompatible avec une vie tant soit peu prolongée. Nous ne pouvons donc pas nous ranger à l'opinion des savants qui prétendent trouver des exemples de mort naturelle chez des animaux aptes à vivre longtemps. C'est ainsi

(1) O. Bloch, *Vom Tode*, t. I, p. 200-202.

(2) Lejoncourt, *Galerie des centenaires anciens et modernes*. Paris, 1842, p. 100.

(3) *Leçons sur les phénomènes de la vie*, 1878, p. 32.

que Harms (1) considère la mort de *Hydroïdes pectinata*, un annélide muni d'organes digestifs complets, qui meurt souvent dans les aquariums, comme un cas de véritable mort naturelle. D'abord on ne conçoit pas pourquoi un animal capable de se nourrir mourrait en peu de temps. L'auteur a bien constaté que ces animaux ne contenaient pas de « parasites », c'est-à-dire quelques entozoaires appartenant au groupe de vers ou de crustacés, mais tout son récit fait supposer qu'il s'agit dans son exemple de quelque infection microbienne, favorisée par le traumatisme occasionné par le détachement de parties lors de l' « autotomie ». La plaie qui se produit pendant cet acte est bien capable de s'infecter, surtout dans les conditions artificielles de vie dans un aquarium. Le délabrement d'une grande partie des tissus de l'animal (épithélium intestinal et rénal, cellules nerveuses), comme on n'en voit jamais chez des animaux qui meurent de leur mort naturelle (Éphémères, Rotateurs, Papillons), sauf chez ceux qui succombent à la suite d'un traumatisme (*Rhabilitis*, *Pilidium*), corroborent notre supposition que la mort d'*Hydroïdes* est due à une infection microbienne. Les phénomènes de régénération des organes qui se produisent à côté de l'autotomie, parlent également contre la thèse de la mort naturelle des annélides de Harms.

Par contre, on a bien le droit d'admettre la mort naturelle des mâles de Rotateurs qui naissent avec des spermatozoïdes prêts à féconder et qui sont dépourvus d'organes de digestion et de préhension de la nourriture. Organisés de façon à ne pas pouvoir vivre longtemps, ils meurent peu de jours après leur éclosion. Un autre exemple de mort naturelle nous est fourni par les Ephémères qui, bien que vivant longtemps pendant leur état larvaire, ont une durée très brève dans leur stade ailé. Quelques-uns parmi eux ont à peine le temps de s'accoupler et meurent peu d'heures après leur sortie de l'eau. Leur tube digestif peu développé et les organes mandibulaires atrophiés indiquent bien qu'ils sont organisés pour une existence très courte.

L'étude que nous avons faite de ces deux exemples de mort naturelle ne nous a pas permis de bien préciser le méca-

(1) *Zoologischer Anzeiger*, 1912, t. XL, p. 117.

nisme de ce phénomène. Les mâles des Rotateurs, très commodes pour une étude morphologique à cause de leur transparence, sont trop petits pour des recherches physiologiques et histologiques détaillées. Les Éphémères sont plus grands, mais leur vie est trop courte pour permettre une étude approfondie. Les plus grandes espèces font leur apparition seulement pendant quelques jours de l'année, ce qui présente un grave inconvénient pour les recherches. Autant que nous avons pu analyser le processus de la mort naturelle des mâles des Rotateurs et des Éphémères, nous sommes arrivé au résultat que ce phénomène ne dépend pas de quelque maladie infectieuse subite. Se manifestant d'abord sous forme de dérèglement des mouvements du corps, la mort naturelle dans nos deux exemples doit être attribuée à quelque altération du fonctionnement des centres nerveux.

Dans l'intention de continuer nos recherches sur la mort naturelle avec plus de précision, nous avons choisi dans le monde des Insectes un exemple qui nous paraît de beaucoup le meilleur de toute la série animale. Nous nous sommes adressé aux papillons du mûrier (*Bombyx mori*). Dépourvus d'une trompe capable de prendre quelque aliment, ces insectes ont une organisation qui ne leur permet de vivre qu'un temps limité. Ils sont donc certainement voués à une mort naturelle. Elevés dans les magnaneries en très grande quantité, ces papillons peuvent être observés pendant plusieurs mois consécutifs. Assez grands pour la dissection et pour certaines recherches physiologiques, ils se prêtent bien à un minutieux examen histologique. Toutes ces raisons justifient pleinement notre choix (1).

Dans sa monographie du ver à soie, Malpighi (2) insiste sur l'influence de la température sur la longévité des papillons. Pendant la saison chaude ils meurent dans l'espace de 5 à 12 jours, tandis qu'au commencement de l'hiver leur vie peut se prolonger jusqu'à un mois.

(1) Notre travail a pu être exécuté dans le courant des deux dernières années (1914-1915), grâce au concours très dévoué de M. F. Lambert, directeur de la Station séricicole de Montpellier. Nous lui adressons ici nos plus vifs et plus sincères remerciements. Nous remercions aussi Mme P. Bastien qui nous a fourni un grand nombre de cocons.

(2) *Traité du ver à soie*. Traduit par Maillot, 1878, p. 124.

D'après Maillot et Lambert (1), la durée de la vie du papillon « en moyenne est de 12 jours ; elle peut tomber à moins de 24 heures et dépasser d'autres fois 25 et même 30 jours ». Il n'est point douteux que les papillons qui meurent le lendemain de leur éclosion ou très peu de jours après, ne peuvent pas être considérés comme morts de leur mort naturelle. Aussi dans nos observations, faites dans le courant de l'été, nous avons exclu tous les papillons morts avant 9 jours. Du reste, sur 116 papillons, nous n'avons observé qu'une seule femelle morte dans ce délai. Le plus grand nombre de morts (13 cas) s'est produit le 13e jour, après quoi la mortalité a diminué jusqu'à la 24e journée, époque la plus reculée de la durée de la vie de nos papillons. Le plus âgé de nos mâles est mort le 23e jour après l'éclosion, pendant que 3 femelles vécurent 24 jours. La durée moyenne de la vie de nos 115 papillons des deux sexes a été de 16,25 jours. Les femelles ont vécu un peu plus longtemps que les mâles. Tandis que la durée moyenne de ces derniers a été de 15,6 jours, celle des femelles s'est élevée à 16,6 jours. Les femelles ont donc survécu les mâles d'une journée. Ce résultat se trouve en contradiction avec Loiseleur-Deslongchamp (2) qui a vu les mâles vivre plus longtemps que les femelles. Nous ne sommes pas non plus en accord avec cet auteur sur la durée comparative de la vie des femelles vierges et accouplées. D'après nos observations, la vie moyenne de 15 vierges a été de 17,4 jours, tandis que celle des 8 femelles accouplées n'a duré que 17 jours (3).

Toutes ces différences dans la longévité ne se sont pas montrées assez grandes pour qu'on leur attribue quelque influence considérable.

Cet exemple de mort, survenant après une période de vie courte, peut-il être attribué à la mort naturelle véritable? L'organisation du papillon du mûrier nous fournit ici des indications précieuses. Contrairement à la règle générale d'après laquelle les Lépidoptères sont munis d'un appareil de succion

(1) *Traité sur le ver à soie du mûrier*. 1906, p. 305.

(2) *Nouvelles considérations sur les vers à soie*. Paris, 1838.

(3) Ce résultat concorde avec les observations de P. et N. Rau (*Journal of experimental Zoology*, t. XII, 1912, p. 199) sur les Saturnides, chez lesquelles les femelles non fécondées vivaient un peu plus longtemps que les fécondées.

constitué par une trompe, les organes de préhension chez le papillon du mûrier sont atrophiés. Au lieu de la trompe il ne possède que deux ampoules, représentant les rudiments de mâchoire. La lèvre supérieure (labre) ne se trouve qu'à l'état de vestige. On conçoit que, dans ces conditions, le papillon du mûrier soit incapable de prendre de la nourriture. Aussi, tous les auteurs sont d'accord en affirmant qu'il reste à jeun pendant tout son cycle vital. Cette conclusion se trouve en parfait accord avec le genre de vie que mène notre lépidoptère. Incapable, à quelques exceptions près, de voler, il vit dans les conditions naturelles sur les branches du mûrier n'y trouvant aucun aliment à sa portée. L'éclosion du papillon se fait pendant la saison lorsque les fleurs sont déjà passées et les mûres pas encore prêtes.

Bien que l'ensemble des faits signalés démontre suffisamment que l'organisation de notre papillon est incompatible avec une vie prolongée, nous avons voulu néanmoins nous en assurer d'une façon plus directe. Il ne faut pas perdre de vue que, bien que dépourvu d'organes de succion, l'insecte possède un tube digestif complet. Un tout petit orifice buccal conduit dans un œsophage, suivi d'un sac aérien, de l'estomac et de l'intestin proprement dit. Au moment de l'éclosion, le papillon rejette par sa bouche une gouttelette de liquide transparent alcalin qui sert pour le ramollissement du cocon. Seulement capable d'éructation, la bouche est impropre à l'avalement. A maintes reprises, avec des papillons à peine éclos aussi bien qu'avec ceux déjà prêts à mourir, je faisais l'expérience suivante: je leur mettais sur la bouche une goutte de sirop additionné de carmin en poudre ou une goutte du contenu rouge des mûres. Jamais je n'ai pu constater le moindre essai de déglutition ni de passage de ces liquides colorés dans le tube digestif.

Le papillon du mûrier ne s'alimentant pas, il est incapable de vivre longtemps, ce qui confirme la supposition que sa mort doit être réellement naturelle. Cette supposition peut-elle être appuyée par d'autres arguments? Nous avons cité plus haut l'exemple des Rotateurs mâles et des Éphémères qui meurent sans être envahis par des microbes. En est-il de même pour

nos papillons? Le fait est bien connu que les papillons du mûrier sont quelquefois atteints de plusieurs maladies infectieuses, parmi lesquelles la pébrine, qui a fait le sujet des recherches classiques de Pasteur. La muscardine et la flacherie ont également été observées chez ce lépidoptère. En présence de ces faits il a fallu avant tout se rendre compte du rôle des microbes dans sa vie et dans sa mort.

Ce sont surtout les vers à soie qui sont capables de s'infecter par leur nourriture. Il est toutefois remarquable que leur tube digestif ne contient à l'état normal qu'une quantité infime de microbes. Contrairement à la règle générale, les vers à soie n'ont pas de flore intestinale. En parcourant les préparations microscopiques faites avec le contenu de leur tube digestif, on est frappé par l'absence de toutes sortes de microbes. Même l'ensemencement de ce contenu sur les divers milieux nutritifs, ne fournit que de rares colonies de bactéries, de torulas et de moisissures. Parmi les bactéries de l'intestin des vers à soie se rencontre quelquefois le petit diplo- et streptocoque décrit par Pasteur (1) comme « témoin » de la flacherie. Ce même microbe a été retrouvé par lui dans la poche stomacale des chrysalides, dans certains cas même en grande quantité. J'ai aussi constaté sa présence chez beaucoup de papillons au moment de la mort. En examinant les frottis du contenu de ces papillons colorés par le bleu de méthylène, je rencontrais des petits diplocoques en plus ou moins grand nombre, qui rappelaient par leur aspect les coccobacilles paralactiques. Dans quelques cas, ces microbes se trouvaient autour des tissus, tandis que dans la plupart, on n'en rencontrait que dans le contenu de l'estomac. On ne peut admettre l'infection que dans les exemples où les diplocoques étaient généralisés dans l'organisme entier, tandis que dans ceux où ils ne se trouvaient que dans le contenu stomacal, il ne pouvait être question que des microbes intestinaux de la période larvaire. La grande majorité de nos papillons morts dans l'espace entre 9 et 24 jours après l'éclosion, ne présentaient de microbes ni dans les tissus ni dans l'estomac. Sur 115 papillons étudiés sous ce rapport, nous avons rencontré 14 infectés, c'est-

(1) *Études sur la maladie des vers à soie.* Paris, 1870, t. I, p. 226.

à-dire renfermant des diplocoques dans leurs tissus et 15 n'en renfermant que dans la poche stomacale. Si on les ajoute aux infectés, il n'en résultera que 25 pour cent des papillons dont la mort pourrait être attribuée à une intervention microbienne. Dans ce nombre ont été rangés quelques papillons dont l'estomac contenait une moisissure verte (*Penicillium glaucum*) parfois réunie en une sorte de plastron. Il est probable que les diplocoques et les moisissures s'étaient développés pendant la dernière période de la vie des papillons aux dépens des microbes et des spores avalés par les chenilles.

En excluant le quart des papillons morts, suspects d'avoir été infectés, il n'en reste pas moins de 75 p. 100, chez lesquels nous n'avons trouvé ni bactéries, ni moisissures. Si les premiers peuvent être considérés comme morts de leur « mort naturelle » au point de vue de la médecine légale, c'est-à-dire morts sans avoir subi aucun acte de violence grossière, la mort des seconds (les trois quarts) doit être attribuée à la véritable mort naturelle au point de vue que nous avons précisé plus haut, comme résultant de l'organisation même. Nous ne voyons aucune raison pour admettre l'intervention de quelque microbe filtrant ou « invisible » dans les cas où on ne trouve aucun microbe capable d'être décelé par les méthodes en notre possession. L'étude expérimentale de cette question est actuellement impossible, étant donnée l'absence de moyens pour isoler et cultiver presque tous les microbes filtrants.

Le processus de la mort des papillons, soit infectés par le diplocoque, soit morts de leur mort naturelle, est le même. La vie si courte de ces lépidoptères est orientée autour de la fonction sexuelle. Aussitôt après l'éclosion, les mâles se mettent à rechercher les femelles pour l'accouplement, qui dure des heures et quelquefois même des jours. De temps en temps, les mâles manifestent leur émotion par le tourbillonnement des ailes, mouvement qui se communique parfois aux femelles, quoique à un degré beaucoup moindre. Malgré leur ardeur sexuelle, je n'ai jamais observé de lutte entre plusieurs mâles mis en présence d'une femelle. Le plus proche ne tarde pas à s'accoupler, tandis que les autres ont l'air d'attendre patiemment leur sort. Jamais je n'ai pu saisir la moindre tentative d'accouplement entre

mâles, comme cela s'observe chez d'autres insectes, notamment chez les hannetons.

Le besoin sexuel se manifeste chez les mâles jusqu'aux derniers moments de leur vie. Même ceux d'entre eux qui vivent le plus longtemps, 20 jours et davantage, se montrent encore capables de s'accoupler à la dernière période de leur existence. Pour citer un exemple, je mentionnerai un mâle à la veille de sa mort et visiblement affaibli dans sa mobilité. A l'approche d'une femelle vierge, il s'est mis à battre des ailes et à tenter l'accouplement; il lui a fallu dix minutes d'essais pour arriver à cette fin. Cet acte l'avait très fatigué. Le jour de sa mort (le 14e après l'éclosion) il se contenta de battre les ailes au voisinage d'une femelle, mais ne manisfesta aucun mouvement de l'abdomen et ne fit aucune tentative pour s'accoupler. Tombé dans un état de grande faiblesse, il réagissait à l'attouchement de ses antennes et de ses ailes et pouvait encore se fixer avec les ventouses de ses tarses. Peu d'heures après, ces mouvements cessèrent. Le papillon, ne pouvant plus se tenir sur ses pattes, n'était capable d'exécuter que quelques faibles mouvements de ses tarses qui ne tardèrent pas à s'arrêter pour toujours.

La mort naturelle de nos papillons évolue petit à petit, aboutissant à une fin apparemment très calme. Ce n'est que dans des cas exceptionnels que nous avons observé quelques mouvements convulsifs des ailes et des pattes, précédant la mort. La sensation de la douleur persiste jusqu'à la fin, car les papillons réagissent aux piqûres et aux brulûres par des mouvements de défense. Mais ils ne font pas d'effort pour prendre la fuite.

L'affaiblissement des papillons avant la mort est considéré comme conséquence de l'inanition à laquelle ils sont sujets dans l'impossibilité de s'alimenter. En effet, leur poids diminue progressivement pendant la courte durée de leur vie. Un mâle, mort le 12e jour après l'éclosion, a perdu pendant ce laps de temps presque la moitié de son poids initial. De 0,349 gramme qu'il pesait au début, il a été réduit au moment de sa mort à 0,0179 gramme. Et cependant ce n'est pas à la dessiccation des tissus qu'il faut attribuer cette mort, car même plusieurs jours après celle-ci les organes conservent suffisamment leur degré d'humidité. Ce n'est pas non plus la faim qui fait mourir

le papillon du mûrier, bien qu'il soit généralement admis qu'exhalant de l'acide carbonique et de la vapeur d'eau et évacuant des excréments riches en acide urique, « cette consommation de ses tissus le conduit fatalement à une mort rapide » (Maillot et Lambert, p. 304). Le corps adipeux, très développé chez nos papillons, reste au moment de la mort en partie inutilisé, surtout chez les mâles. Même ceux qui ont atteint leur longévité maximale de 20 à 23 jours, ont présenté cet organe bien conservé. Chez les femelles, le corps gras sert au développement des œufs et, partant, il est beaucoup plus épuisé que chez les mâles, ce qui ne les empêche pas de vivre encore un peu plus longtemps que ces derniers. Les organes génitaux au moment de leur mort accusent le plus souvent une quantité de réserves qui pourraient bien fournir des matériaux nutritifs pour l'entretien vital des papillons. La cause de leur mort naturelle doit donc être cherchée ailleurs que dans l'absence de ces matériaux.

L'approche de la mort se manifestant surtout par une grande faiblesse musculaire, on a le droit de se demander si elle ne serait pas liée à quelque altération des muscles, capable d'être révélée par le microscope. On sait que chez les vieillards les fibres striées accusent une prolifération abondante des noyaux musculaires et du sarcoplasma aux dépens du myoplasma, phénomène que nous rangeons dans la catégorie de la phagocytose. Or, chez le papillon du mûrier rien de pareil ne se produit, car son tissu musculaire conserve jusqu'à la fin sa structure normale (pl. X, fig. 1, 2). Et cependant ni les phagocytes ni la phagocytose des muscles ne font défaut chez notre lépidoptère. Dans tous les stades de sa vie les globules blancs abondent dans le sang. On en trouve quelquefois qui sont remplis de granulations graisseuses d'origine exogène. Chez des vers à soie et des chrysalides infectés il n'est pas rare de rencontrer des leucocytes renfermant des diplocoques. Quant à la phagocytose musculaire, elle s'observe régulièrement pendant la métamorphose. Le sang des chrysalides pendant ce stade contient des globules blancs remplis de granulations diverses et autour de certains groupes musculaires on reconnaît des amas de phagocytes dont l'origine n'a pas été établie d'une façon précise. Mais chez le papillon du mûrier la fonte des tissus larvaires

est loin d'être aussi profonde que chez tant d'autres insectes à métamorphose complète, notamment chez les mouches.

A côté du tissu musculaire ce sont les cellules nerveuses qui accusent, dans la vieillesse de l'homme et des animaux supérieurs, un envahissement par les phagocytes. Malgré les objections formulées par certains auteurs, les faits nombreux que nous avons constatés nous obligent de maintenir l'opinion sur l'abondance des neuronophages autour des cellules du cerveau et des ganglions nerveux de ces vertébrés. Rien de semblable n'existe chez le papillon du mûrier. Les globules blancs, malgré leur tendance à s'insinuer dans certains organes (comme les plaques glandulaires de la vessie urinaire), n'arrivent jamais au voisinage des cellules nerveuses. Celles-ci subissent plutôt l'entourage des cellules pigmentaires ou de leurs prolongements. Voici de quoi il s'agit. Aussitôt différenciés, les centres nerveux du ver à soie accusent deux sortes de cellules. D'abord et surtout des éléments nerveux proprement dits (fig. 3, 4, pl. X), avec leur gros noyau vésiculaire riche en suc nucléaire et en masses chromatiques. A la périphérie de ces cellules on trouve en abondance de tout petits grains de pigment brun foncé que l'on pourrait croire logés dans leur protoplasma. Il n'en est rien cependant. Le pigment qui ne fait qu'entourer les cellules nerveuses (fig. 3, 4) appartient à des cellules particulières munies d'un noyau rempli de granulations chromatiques et de prolongements protoplasmiques.

La richesse en pigments des centres nerveux des jeunes vers à soie est telle que ces organes frappent l'œil par leur coloration foncée (fig. 5, pl. X). Lorsqu'on ouvre une chenille à cette période de développement, on trouve de suite la chaîne ganglionnaire pigmentée, cette pigmentation facilitant beaucoup la recherche. Mais cet état se modifie au fur et à mesure de l'évolution, car les ganglions et les cellules qui les constituent augmentent de volume, tandis que la quantité de pigment reste toujours la même. Il en résulte une distribution beaucoup plus éparse des grains colorés autour des cellules nerveuses, ce qui fait que la distinction de la chaîne ganglionnaire, chez les vers adultes, est beaucoup plus difficile que chez les vers plus jeunes. La même situation que chez les premiers persiste chez les chrysalides et chez le papillon. Les ganglions chez ces

derniers renferment des cellules nerveuses de gros volume, à l'entourage desquelles on ne trouve que relativement peu de grains pigmentaires. Les papillons les plus âgés n'accusent aucune augmentation de pigment des centres nerveux (fig. 6, pl. X), nous présentant un fait sur lequel je dois insister tout particulièrement. Plusieurs auteurs ayant remarqué que les cellules nerveuses des vieillards se distinguent par une richesse en grains pigmentaires, ont émis l'idée que cette accumulation des « scories » provoquerait la dégénérescence sénile du cerveau. C'est surtout Mühlmann (1). qui insiste sur cette théorie. Il veut même généraliser pour tout le règne animal le fait établi pour l'homme et quelques mammifères, et si certains des animaux n'accusent pas de grains pigmentaires dans leurs cellules nerveuses, Mühlmann se contente de la présence des granulations lipoïdiques ou graisseuses pour sauver la théorie. Aussi, il demande que, pour constater le pigment, on se serve d'acide osmique, qui colore les graisses en noir et qui, à cause de cela, empêche la reconnaissance du vrai pigment. Mais, même par cette méthode, avec Mesnil et Weinberg (2), nous n'avons pu trouver de grains colorés dans les cellules cérébrales d'un très vieux perroquet. Chez des souris blanches et des rats blancs, les plus vieux que nous avons pu nous procurer, nous n'avons observé que des granulations incolores dans les centres nerveux. Des préparations de cerveau, faites par la même méthode qui avait facilement révélé de vrais grains de pigment chez le vieillard, le vieux cheval et le vieux chien, ne nous ont montré aucune pigmentation des cellules nerveuses de vieilles souris et de vieux rats blancs.

Cette théorie d'accumulation des grains pigmentaires comme règle générale dans la vieillesse doit donc être abandonnée. Pour ce qui concerne le papillon du mûrier, ses cellules nerveuses, à l'âge le plus avancé, n'accusent même pas de granulations incolores. Examinés à l'état vivant, ces éléments présentent un contenu homogène incolore et dépourvu de grains d'aucune espèce. Ce n'est que sur des coupes colorées (3) que l'on

(1) *Archives de Virchow*, 1913, t. CCXII, p. 235 et t. CCXIV, p. 412.
(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1912, p. 912.
(3) Je dois mes meilleures coupes à M. Wollman, assistant de mon service ainsi qu'à M. Remy.

perçoit la structure interne de ces cellules, dont le protoplasma contient des vacuoles plus ou moins distinctes (fig. 7, pl. X). Au début de nos recherches, il nous a semblé que cette structure vacuolaire était plus accusée chez les vieux papillons que chez les jeunes. Mais, dans la suite, nous nous sommes aperçu que, non seulement chez les papillons à peine éclos, mais même chez le ver à soie, les cellules des ganglions nerveux présentent les mêmes vacuoles protoplasmiques.

Dans l'impossibilité de constater quelque différence histologique entre les éléments nerveux des jeunes et des vieux papillons, nous avons eu recours à la méthode de A. Kossel qui se sert d'un mélange de fuchsine acide et de vert de méthyle en solution alcoolique. D'après Marinesco, la dégénérescence sénile et la mort naturelle des cellules nerveuses se distingueraient par l'aptitude de leurs nucléoles à fixer la couleur rouge. Examinons comment se comportent, à ce point de vue, les éléments nerveux des vers à soie et des papillons du mûrier. Chez la chenille, peu de jours après la naissance, nous voyons la capsule des ganglions nerveux ainsi que la masse des fibrilles nerveuses colorées légèrement en rose par la fuchsine acide, tandis que le protoplasma et les nucléoles des cellules nerveuses, petites et grandes, se colorent d'une façon uniforme en bleu violet pâle (fig. 8, pl. X). Il n'y a que les noyaux des cellules pigmentaires que l'on pourrait ranger dans la catégorie des éléments conjonctifs ou d'une sorte de névroglie qui présentent une coloration fortement bleue (fig. 8). Le ver à soie adulte accuse les mêmes particularités qui se maintiennent aussi dans la suite. Chez le papillon fixé, aussitôt après son éclosion, ce ne sont que les fibrilles et la capsule qui prennent la coloration rose (fig. 9, pl. XI). Le protoplasma et les nucléoles des cellules nerveuses se colorent en bleu pâle, les noyaux des cellules pigmentaires, conjonctives et musculaires en bleu plus foncé. Les mêmes particularités ont été constatées chez un papillon mort le dixième jour après l'éclosion, sans avoir présenté de microbes quelconques, c'est-à-dire mort de sa mort naturelle (fig. 7, pl. X).

Pour obtenir une plus forte différenciation colorante, nous avons dû garder les coupes beaucoup plus longtemps dans la solution de fuchsine. Dans ces conditions, il a été possible

d'obtenir la coloration rose des nucléoles des cellules nerveuses, mais en même temps le protoplasma de ces éléments se colorait en rose violet ou en rose franc (fig. 10, *nc*, pl. XI). Les granulations nucléaires des cellules pigmentaires (fig. 10, *np*), ainsi que les fibrilles nerveuses et conjonctives prenaient la coloration rose prononcée (fig. 10, *fr*, *fc*), de sorte qu'il ne restait que quelques noyaux conjonctifs, qui résistaient à la surcoloration et paraissaient d'un bleu nettement clair (fig. 10, *p*).

Somme toute, la méthode de Kossel ne nous a pas révélé de changements considérables dans l'état des éléments nerveux, pendant le développement de nos papillons jusqu'au moment de leur mort naturelle. Et cependant, il est indéniable que celle-ci a dû toucher les cellules nerveuses au premier chef. Il faut remarquer qu'en général, les dernières phases de la vie et le processus de la mort de ces lépidoptères ne s'accompagnent pas de modifications histologiques appréciables, ainsi que nous l'avons mentionné plus haut, au sujet des fibres musculaires. En cherchant dans les divers tissus, voici ce que j'ai pu constater au sujet des granulations particulières. Sur l'enveloppe des ganglions nerveux des papillons à peine éclos, aussi bien que de ceux qui viennent de mourir, j'ai observé de grosses cellules contenant de petites granulations incolores, groupées autour des vacuoles volumineuses. Mais ce sont surtout les granulations très fines sur le parcours des muscles suspenseurs de la chaîne ganglionnaire abdominale qui ont attiré mon attention. Toutefois ces granulations n'empêchent guère la mobilité des fibres musculaires, qui est très active, même au moment de la mort naturelle de nos papillons.

En général, il est à remarquer que beaucoup d'éléments conservent leur vitalité pendant un certain temps après la mort de ces insectes. Ainsi, nous avons vu le cœur isolé se contracter très activement. Les spermatozoïdes ont conservé leur mobilité vingt-cinq heures après la mort d'un mâle qui a vécu dix-neuf jours.

En cherchant à pénétrer le mécanisme de la mort naturelle de nos papillons, nous avons été frappé par certains côtés de leurs fonctions excrétoires. Il est bien connu que, presque aussitôt après l'éclosion, les papillons rejettent une urine com-

posée d'un liquide brun rouge et d'un dépôt grisâtre de granulations, constituées surtout par l'urate d'ammoniaque. Cette urine est émise avec force à une, deux ou plusieurs reprises qui se suivent à brève échéance. Nous avons observé dans quelques cas, jusqu'à quatre émissions d'urine en une journée. Quelquefois, le lendemain après l'éclosion, les papillons urinent encore une ou deux fois ; mais, dans les jours suivants, l'émission était de plus en plus rare ; une fois nous l'avons surprise au sixième et une autre fois même au douzième jour après l'éclosion. En règle générale, la suppression urinaire persiste jusqu'à la mort et peut durer même pendant vingt jours consécutifs. Quelquefois, pendant la période anurique, l'accouplement ou la saisie du papillon, c'est-à-dire quelque forte excitation, amènent une forte émission urinaire.

Eh bien, l'anurie des papillons ne dépend pas de l'absence d'excrétion urinaire. Tout au contraire. A l'autopsie des papillons qui n'avaient pas uriné pendant de longs jours, leur vessie présente des dimensions énormes et contient une quantité d'urine avec un abondant dépôt d'urates. Dans ces conditions, on peut se demander si la rétention si prolongée d'excreta n'amènerait pas une sorte d'intoxication urinaire et si la mort naturelle du papillon du mûrier ne se réduirait pas à une mort par urémie. Il est à remarquer que l'urine, à la fin de la vie de cet insecte, devient plus dense que pendant les stades antérieurs, ce qui indiquerait que ce sont les parties liquides, résorbées par l'organisme, qui amèneraient l'empoisonnement final.

Pour éclaircir le problème, jetons un coup d'œil sur la fonction urinaire de notre lépidoptère. Pendant l'état larvaire, la plus longue période de sa vie, le ver à soie se nourrit de feuilles du mûrier et produit dans ses reins ou tubes de Malpighi une quantité d'oxalates. A l'examen microscopique de ces organes, on reconnaît des octaèdres caractéristiques d'oxalate de chaux à côté d'une quantité de plaquettes quadrangulaires (fig. 11, pl. XI.) Avant de se transformer en chrysalide, les résidus végétaux de l'intestin, ainsi que le contenu des tubes de Malpighi, sont rejetés au dehors. La chrysalide, ne prenant plus de nourriture végétale, devient autophage. Elle se nourrit aux dépens de son liquide sanguin. Très abondant chez le ver,

ce liquide s'use au fur et à mesure du développement, de sorte que le papillon éclos est presque complètement exsangue. En plus, certains tissus qui s'atrophient pendant la métamorphose, tels que quelques muscles et l'épithélium intestinal larvaire, fournissent de leur côté le matériel nutritif pour les organes qui se développent — organes génitaux, la tête et le thorax du papillon. Pendant cette phase, la fonction urinaire accuse un changement notable. Les cristaux oxaliques cèdent leur place à des cristaux sous forme d'aiguilles à deux pointes (fig. 12, pl. XI) de couleur jaune, ce qui indique leur provenance du sang de même couleur. En même temps, les cellules épithéliales des tubes rénaux se remplissent de granulations plus grosses à la périphérie, toutes petites à la profondeur. Cette première période de la métamorphose se caractérise par l'excrétion des granulations urinaires dans la lumière des tubes de Malpighi, sans qu'elles passent dans la vessie, qui reste vide. Ce n'est que dans la dernière phase de la chrysalide, lorsqu'elle est munie de pigment oculaire noir, que la vessie commence à se remplir de liquide brun rouge et d'une quantité de granulations composées d'urates. Cette période coïncide avec le développement définitif du corps gras. Ce dernier organe est constitué chez le ver à soie par des amas de cellules adipeuses réunies en lobes dépourvus de trachées (fig. 13, pl. XI). C'est la période de la formation des dépôts de graisse. Dans la première partie de la métamorphose, le corps gras se désagrège en lobes de différentes grandeurs. Un certain nombre de cellules adipeuses nagent librement dans le liquide sanguin encore très abondant. Plus tard, les cellules forment des amas compacts dans lesquels on ne trouve pas encore de tubes trachéens, qui n'apparaissent qu'à la dernière période de la vie de la chrysalide (fig. 14, pl. XI).

Le papillon sort de son enveloppe avec les tubes de Malpighi définitifs, remplis de granulations uratiques (fig. 15, pl. XI) et une vessie pleine d'urine. Le mâle emporte son corps gras presque intact, tandis que la femelle n'en garde qu'une partie, l'autre étant utilisée au développement des œufs. Le passage de la graisse des cellules adipeuses dans le vitellus doit se faire sans difficulté. Il se produit à un stade où les lobes adipeux ne sont pas encore munis de trachées. Il faut penser que la pénétration de ces tubes aériens dans l'intérieur des lobes,

qui caractérise la dernière phase de la métamorphose, constitue une adaptation pour les besoins respiratoires du papillon. Aussi, nous voyons la fonte de la graisse s'accomplir pendant la vie de ce dernier. Chez le mâle, avec son corps adipeux peu réduit au moment de l'éclosion, une partie suffit pour l'entretien pendant la vie si brève (fig. 16, pl. XI). Chez la femelle, dont une grande quantité de graisse a été absorbée par la formation des œufs, le restant du corps gras suffit pour les besoins nutritifs jusqu'au moment de la mort.

Il est tout à fait légitime de supposer que c'est la fonte du corps gras qui produit la ou les substances toxiques qui passent dans l'urine et qui occasionnent l'empoisonnement fatal de nos papillons. Devant cette hypothèse, il nous a paru intéressant d'étudier la toxicité de l'urine de ces lépidoptères prise aux différents stades de leur existence. Ayant éprouvé son action sur les vers à soie, les papillons du mûrier et les petites souris blanches, encore à la mamelle, nous pouvons affirmer que l'urine des chrysalides avancées dans leur développement ainsi que celle des papillons jeunes ou prêts à terminer leur cycle vital, est incontestablement toxique. L'inconvénient, pour les expériences avec les insectes, consiste dans ceci que leur organisme se protège contre les influences nuisibles surtout par l'enveloppe chitineuse de la peau et que partant, toute blessure, restant béante, est sujette à la contamination par les microbes. Il arrive donc souvent que les vers à soie et les papillons, injectés avec l'urine, meurent au bout d'un certain temps, avec une quantité de bactéries dans leur sang. Malgré cette difficulté, il m'est arrivé, à plusieurs reprises, de constater l'influence toxique de l'urine, sans qu'il se produise lá moindre infection microbienne. Seulement cet effet ne se traduit pas par une mort rapide, mais aboutit à cette fin après une période plus ou moins longue. Dans une expérience sur trois vers à soie pris quelques jours après la quatrième mue, un ver qui a reçu environ 0,5 cent. cubes d'urine de chrysalides avancées dans leur développement, tomba aussitôt après l'injection dans un état comateux. Cet état persista pendant quelques heures, après quoi le ver s'est mis à bouger, mais refusa toute nourriture jusqu'à la mort, survenue au bout de six jours. Malgré une agonie très longue, le sang de l'insecte se montra indemne

de tout microbe. Deux autres vers de même âge, qui reçurent environ 0,25 et 0,12 cent. cube de la même urine, éprouvèrent une intoxication passagère, ce qui ne les empêcha pas de se transformer en chrysalides et de sortir sous forme de papillons apparemment normaux.

Dans une autre expérience, un papillon mâle fraîchement éclos tomba dans l'agonie le lendemain, après une injection d'urine, prélevée à quatre chrysalides. L'agonie dura trois jours et ce n'est qu'au moment de la mort que le sang de l'animal accusa des coccus nombreux. Plusieurs préparations de ce liquide prélevé pendant l'agonie se montrèrent parfaitement stériles.

Les papillons se montrèrent dans plusieurs expériences plus sensibles à l'action toxique de l'urine des chrysalides et des papillons que les vers à soie.

Comme liquides de contrôle, j'injectai aux vers et aux papillons de la solution physiologique de chlorure de sodium, du sang de chrysalides, du lait stérilisé et de l'urine d'homme. De tous ces liquides, c'est l'urine humaine qui se révéla comme le plus toxique et cependant, un ver injecté avec 0,5 cent. cube d'urine acide de densité 1021, fila bien son cocon et se transforma en papillon normal.

Chez les toutes petites souris, l'effet toxique de l'urine des chrysalides et des papillons est encore plus marqué que chez les vers à soie et les papillons, car chez les premières, la mort survient plus rapidement que chez les seconds. Quelquefois les souris meurent même dans l'espace de moins d'une heure. Mais ce fait ne s'observe que chez les souris aveugles, ne pesant que 2 à 3 grammes. Chez les souris plus âgées, recouvertes de poils et ayant les yeux ouverts, l'intoxication est passagère, et cependant bien manifeste. Même chez les souris adultes, l'injection de l'urine des papillons exerce une action nettement toxique.

Les résultats de nos expériences ne laissent pas de doute sur la toxicité de l'urine des chrysalides et des papillons. En ouvrant les petites souris mortes intoxiquées, on retrouve intact le dépôt grisâtre de cette urine, ce qui indique que ce ne sont pas les granulations uratiques, mais bien la partie liquide de l'urine qui produit l'intoxication. Ce fait concorde bien avec la

faible solubilité et le très faible pouvoir toxique de l'urate d'ammoniaque. Pour l'étude plus détaillée et plus approfondie de la toxicité urinaire, il est indispensable de posséder une quantité très grande d'urine, ce qui ne peut être réalisé que dans les magnaneries. On peut espérer que dans ces conditions on réalisera de nouveaux progrès dans l'étude du si intéressant problème de la mort naturelle, ce qui facilitera son entrée dans la phase positive des connaissances. Lorsque, dans l'avenir, on apprendra à cultiver les microbes filtrants avec la même facilité avec laquelle on fait actuellement les cultures du microbe de la péripneumonie des bovidés, on établira avec certitude si, dans la mort du papillon du mûrier, il peut être question d'un rôle quelconque de microbes filtrants.

On voit, d'après l'étude qui précède, que je ne peux guère me vanter d'avoir réduit la vieillesse et la mort du papillon du mûrier aux phénomènes moléculaires des colloïdes. Ce n'est que dans l'avenir, lorsqu'on connaîtra suffisamment les phénomènes moins délicats, mais capables d'être étudiés par nos méthodes actuelles de recherches positives, que l'on pourra se risquer à approfondir le problème sur le terrain de la physicochimie.

Tout ce que nous avons appris sur la mort naturelle nous autorise à admettre que le lépidoptère que nous avons choisi pour nos études présente un type achevé de cycle complet et naturel d'une existence normale. Bien que les papillons réagissent jusqu'au dernier moment à la douleur, il faut penser qu'ils meurent, empoisonnés par les produits de leur propre organisme, sans souffrance et sans appréhension de la mort. Il faut espérer que cette fin à laquelle nos papillons aboutissent simplement par la voie naturelle, sera atteinte dans l'avenir par les hommes, qui n'auront pas besoin des soutiens que nous avons mentionnés au début de cet article.

On représente le papillon comme symbole de l'immortalité. Il serait plus indiqué de le représenter comme symbole d'une vie heureuse, de l'*orthobiose*.

EXPLICATION DES FIGURES

PLANCHE X

Fig. 1. — Une fibre musculaire du thorax d'un papillon mort le seizième jour après l'éclosion. Coloration avec le bleu de méthylène aqueux.

Fig. 2. — Une fibre musculaire du cœur d'un papillon mort le vingtième jour. Préparation fraîche d'un muscle en pleine contraction.

Fig. 3. — Coupe d'un ganglion ventral d'un ver à soie de troisième âge (bientôt après la deuxième mue). Vert de méthyle et fuchsine acide.

Fig. 4. — Une partie d'une autre coupe du même animal.

Fig. 5. — Ganglion ventral d'un tout petit ver à soie âgé de six jours.

Fig. 6. — Ganglion ventral d'un papillon ♀ mort le dix-huitième jour après l'éclosion.

Fig. 7. — Coupe d'un ganglion ventral d'un papillon mort le dixième jour après l'éclosion. — *v*, vacuoles des cellules nerveuses ; *p*, noyau d'une cellule pigmentaire. Vert de méthyle et fuchsine acide.

Fig. 8. — Coupe de cerveau d'un tout petit ver à soie du sixième jour. Cinq heures dans du vert de méthyle et peu de minutes dans la fuchsine. — *p*, cellules pigmentaires.

PLANCHE XI

Fig. 9. — Coupe d'un ganglion ventral d'un papillon, aussitôt après son éclosion. — *p*, cellule pigmentaire avec son noyau bleu intense. Cinq heures dans le vert de méthyle et peu de minutes dans la fuchsine acide.

Fig. 10. — Coupe d'un ganglion ventral d'un papillon de race japonaise, mort le troisième jour après l'éclosion. — Liqueur de Bouin. Cinq heures dans le vert de méthyle. Fuchsine acide. — *nc*, nucléoles des cellules nerveuses ; *np*, noyau d'une cellule pigmentaire ; *p*, noyau des cellules conjonctives ; *fc*, fibrilles conjonctives ; *fn*, fibrilles nerveuses.

Fig. 11. — Une partie d'un tube de Malpighi d'un ver à soie.

Fig. 12. — Granulations et cristaux en aiguilles, d'un tube de Malpighi d'une chrysalide.

Fig. 13. — Deux lobes du corps gras d'un ver à soie, lobes ne renfermant pas encore de tubes trachéens.

Fig. 14. — Lobe du corps gras d'une chrysalide avancée dans son développement avec un tube trachéen dans l'intérieur.

Fig. 15. — Une partie d'un tube de Malpighi d'un papillon femelle, mort le seizième jour. — *g*, granulations uratiques.

Fig. 16. — Une partie du corps gras d'un papillon mâle mort le onzième jour.

LA DYSENTERIE DE L'ARGONNE

ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE

par P. REMLINGER

Médecin-major de 1re classe,
Chef du Laboratoire Central de Bactériologie de l'Armée,

et J. DUMAS

Médecin aide-major, attaché au Laboratoire.

Nous avons été chargés, au mois de décembre 1914, de nous rendre dans l'Argonne afin d'étudier des cas de diarrhée épidémique qui sévissaient sur les troupes cantonnées dans la région. Un doute existait au sujet de la nature de cette affection dont les uns faisaient une dysenterie soit bacillaire, soit amibienne et d'autres une forme particulière de paratyphoïde. Durant notre séjour à Sainte-Menehould, du 25 décembre 1914 au 15 février 1915, et à Condé-en-Barrois (Hôpital de Contagieux), du 16 février au 22 mars, nos examens ont porté sur plusieurs centaines de malades. Nous n'avons guère eu de peine à établir que si tous les cas de diarrhée de l'Argonne ne relevaient pas d'une cause univoque (1), la plupart devaient être rattachés à la dysenterie dont il existait — à côté des formes diarrhéiques — des cas des plus typiques, et qu'en somme, l'épidémie qui sévissait sur nos troupes était une épidémie de dysenterie bacillaire.

A l'encontre de la grande majorité des épidémies causées par le bacille de Shiga ou le bacille de Flexner, l'épidémie de l'Argonne s'est montrée produite par un bacille possédant tous les caractères — caractères de fermentation et d'agglutination en particulier — du bacille de Hiss.

Dans quelques cas présentant une gravité plus grande, il a, au contraire, été isolé un bacille doué — si l'on en excepte

(1) P. REMLINGER et J. DUMAS, La diarrhée dite des tranchées. *Revue d'Hygiène et de Police sanitaire*, t. XXXVIII, n° 5, mai 1915, p. 490-498.

les caractères d'agglutination — des principaux attributs du bacille de Shiga.

Les unes et les autres de ces dysenteries résistaient de façon presque absolue au sérum anti-dysentérique, soit anti-Shiga, soit polyvalent (anti-Shiga, anti-Flexner et anti-Hiss). Ces particularités nous ont engagés à donner, avec quelque détail, la relation de cet épisode épidémiologique, en insistant sur les caractères des microbes isolés.

CARACTÈRES CLINIQUES ET ANATOMO-PATHOLOGIQUES

Physionomie clinique. — A ce que la dysenterie de l'Argonne se soit, chez un grand nombre de malades, exclusivement traduite par une diarrhée dysentériforme, voire par de la diarrhée vulgaire, il ne doit point y avoir matière à surprise. L'épidémiologie et la bactériologie nous ont appris de longue date à connaître la coexistence avec des formes typiques de dysenterie ou de fièvre typhoïde, de cas de diarrhée à bacille de Shiga ou à bacille d'Eberth.

De ces cas de diarrhée vulgaire, nous n'avons rien à dire au point de vue clinique. Tous les intermédiaires existaient entre eux et la dysenterie classique qui, elle, ne différait en rien de la dysenterie bacillaire la plus typique. Le petit nombre des selles (une trentaine par jour au maximum), la prédominance des émissions nocturnes, l'apyrexie, la conservation d'un bon état général, l'absence de complications (hépatiques et articulaires en particulier), la tendance naturelle de la maladie à la guérison, sauf le cas d'apparition d'un syndrome capsulaire rapidement mortel, sont, avec l'inefficacité déjà signalée du sérum anti-dysentérique les seules particularités que nous ayons à relever. La formule leucocytaire s'est toujours montrée banale. C'est une polynucléose vulgaire et peu intense (80 à 90 p. 100), qui s'atténue un peu pendant la convalescence.

Anatomo-pathologie macroscopique. — Les lésions anatomo-pathologiques nous retiendront davantage. Nous avons eu l'occasion de pratiquer 6 autopsies. La mort avait été déterminée cinq fois par une surrénalite aiguë et une fois par une péritonite par propagation. Les lésions observées ne différaient

en rien de celles décrites dans les dysenteries bacillaires les plus typiques et les plus graves des pays chauds. L'ouverture de l'intestin montrait des lésions localisées aux côlons avec prédominance au niveau du rectum et souvent aussi du cæcum. La muqueuse était épaissie, œdémateuse, de couleur rouge violacé, semée d'ulcérations qui donnaient parfois à l'intestin l'aspect classique du vieux bois vermoulu.

L'intestin grêle était sain ou présentait, au niveau de ses dernières portions, des lésions analogues à celles du côlon, mais moins étendues, plus superficielles et siégeant toujours en dehors des plaques de Peyer. Dans un cas seulement, l'estomac montrait par endroits une teinte ecchymotique et aussi 2 à 3 petites ulcérations en coup d'ongle à fond hémorragique qui paraissaient avoir été le point de départ d'une hématémèse observée pendant la vie.

Toujours, les ganglions mésentériques étaient augmentés de volume, hyperémiés, nullement ramollis au centre. Leurs dimensions variaient de celles d'une lentille à celles d'un gros haricot.

La rate petite, dure, contractée, excluait toute association à la dysenterie d'une infection à bacilles d'Eberth ou à bacilles paratyphiques.

Le foie, les reins, étaient congestionnés. Le pancréas ne présentait à noter aucune particularité.

Chez les malades porteurs du syndrome capsulaire, les surrénales apparaissaient environ doublées de volume. Le parenchyme était plus dur, plus ferme qu'à l'état normal, ou congestionné, hémorragique.

Chez ces mêmes malades, le cœur droit apparaissait d'ordinaire flasque, dilaté, avec un myocarde légèrement décoloré.

Poumons sains ou présentant une congestion banale des bases.

Dans un cas, il a été observé une péritonite adhésive sous-méso-colique par propagation au péritoine de l'inflammation intestinale. Pas de perforation.

En somme, dysenterie classique et pure de toute association, de tout mélange.

Notons de suite — en concordance avec les résultats toujours négatifs de l'hémoculture — que même lorsque l'autopsie était pratiquée un très petit nombre d'heures après la mort,

les ensemencements du sang du cœur et des pulpes d'organes demeuraient invariablement stériles ou ne donnaient que du Coli-bacille. Même dans les dernières heures de la vie, le bacille dysentérique ne paraît pas susceptible de généralisation.

Lésions histologiques. — L'autopsie de nos 6 malades a pu être faite dans des conditions très favorables, permettant l'étude histologique des organes et particulièrement celle des capsules surrénales. Nous avons pris toutes les précautions nécessaires contre les altérations cadavériques et les artifices de préparation.

Les fragments d'organes ont été fixés dans le liquide de Bouin, le seul fixateur que nous ayons eu à notre disposition, et les coupes colorées à l'aide des trois méthodes suivantes : hématoxyline au fer, éosine orange ; hématoxyline, Van Gieson ; bleu de toluidine, éosine orange.

Rien de particulier n'a été noté dans l'étude anatomo-pathologique des coupes du gros intestin, du péritoine, du mésentère, des ganglions mésentériques. De même le foie, la rate, le cœur, le pancréas ne présentent aucune particularité à signaler.

Chez 4 malades, ayant présenté un syndrome de surrénalite aigu, les lésions capsulaires et rénales ont, par contre, attiré notre attention.

Capsules surrénales.

Dans la zone glomérulaire, les capillaires sont congestionnés et gorgés de globules rouges. Les éléments cellulaires sont normaux; entre les cordons, on remarque la présence de foyers leucocytaires (6 à 8 dans toute la coupe) formés de dix à vingt lymphocytes et leucocytes à noyaux polymorphes. Au niveau des zones fasciculée (zone interne et externe) et réticulée, les lésions anatomo-pathologiques sont plus marquées. Les cellules des cordons glandulaires présentent un aspect granuleux du protoplasme, leur contour est mal limité, et les granulations ergastoplasmiques sont invisibles. Les noyaux sont altérés, ils ont conservé leurs affinités tinctoriales, mais certains ont un aspect pycknotique. Au niveau de la zone interne de la fasciculée, on constate la présence de vacuoles

intracellulaires. La quantité de pigment est normale, les capillaires sont congestionnés. On retrouve dans la médullaire ces mêmes phénomènes de nécrose, de coagulation protoplasmique et nucléaire et une congestion interne des capillaires avec présence de leucocytes et de lymphocytes à noyaux polymorphes. A un stade plus avancé de l'infection dysentérique (*syndrome capsulaire ayant duré 4 jours*), les lésions intéressent les 3 couches de la corticale. Les cordons glandulaires de la glomérulaire sont disloqués, bouleversés et présentent une légère nécrose de coagulation du protoplasme avec pycknose des noyaux. Au niveau des couches fasciculée et réticulée, la fonte cellulaire est plus marquée et la structure histologique de la glande n'est plus respectée. Le protoplasme des spongiocytes a un aspect vitreux, amorphe, et les granulations ergastoplasmiques ont disparu. Ces phénomènes de nécrose de coagulation retentissent sur le noyau, qui a un aspect pycknotique et une réaction acidophile. Les capillaires de ces différentes couches sont congestionnés. Mêmes phénomènes de nécrose au niveau de la médullaire. Dans un cas d'hémorragie capsulaire bilatérale, la suffusion sanguine, qui avait vraisemblablement pris naissance au niveau de la veine centrale de l'organe, avait détruit une grande partie de la médullaire et de la réticulée. A côté des lésions mécaniques (compression des cordons glandulaires par la suffusion hémorragique) il existait des altérations cellulaires de la fasciculée et de la glomérulaire (nécrose de coagulation du protoplasme et du noyau) relevant d'une action directe du poison dysentérique. Ces lésions sont à rapprocher des altérations capsulaires décrites par Auguste Pettit, après injection de toxine diphtérique. Il est vraisemblable d'admettre qu'en déterminant des lésions cellulaires et vasculaires aussi importantes, le poison dysentérique a dû gravement modifier et troubler la sécrétion surrénale.

Reins.

Les lésions de néphrite hémorragique se sont montrées constantes. Outre la congestion intense des capillaires, outre les hémorragies diffuses comprimant les cellules des tubes contournés et détruisant la substance rénale, nous avons relevé

des lésions cellulaires de l'épithélium des tubes contournés, caractérisées par la disparition de la bordure en brosse et des phénomènes de nécrose de coagulation du protoplasme (contours cellulaires mal délimités — aspect vitreux) et du noyau (aspect pycknotique). Dans de nombreux tubes contournés, on constatait la présence de cylindres hyalins.

CARACTÈRES ÉPIDÉMIOLOGIQUES, ÉTIOLOGIE

Au point de vue épidémiologique et étiologique, il nous suffira de dire que, depuis ses débuts, la maladie a toujours affecté une allure lente et traînante, qu'elle a procédé par cas sporadiques beaucoup plus que par poussées successives ou par petits paquets dans un régiment, une compagnie,... etc., et, d'autre part, que tous les corps de troupe cantonnés dans l'Argonne ont payé à l'affection un tribut très sensiblement égal. Cette uniformité dans le temps et dans l'espace cadre mal avec une étiologie hydrique ou alimentaire. Plusieurs de nos malades nous ont affirmé, du reste, n'avoir bu les uns que du vin et du café, les autres que de l'eau dûment stérilisée. La mortadelle et différents produits de charcuterie avaient un instant, au début de nos recherches, attiré notre attention. Nous n'avons pas tardé à exclure complètement l'hypothèse de leur rôle étiologique. Avec une unanimité des plus complètes, les malades incriminaient la fatigue, le froid, l'alimentation froide et trop exclusivement carnée. Il va de soi que ces différents facteurs n'ont pu intervenir que comme des prédisposants ayant préparé le terrain au germe spécifique. Comment celui-ci s'est-il transmis? Il semble que ce soit presque exclusivement par contagion interhumaine. Celle-ci paraît, cet hiver, s'être surtout effectuée par l'intermédiaire de la boue à laquelle, dans les tranchées, les matières fécales s'incorporent forcément et qui peut parvenir au tube digestif par bien des voies.

Il va de soi qu'au cours d'une épidémie d'été, c'est par les poussières et les mouches que cette même contagion s'effectuerait. Le mécanisme est à peu de chose près identique.

Cependant, quelle a été la provenance des premiers germes dysentériques de l'Argonne? La dysenterie ne paraît pas être née sur place, mais avoir été importée. A plusieurs reprises,

la prédominance de l'affection dans des régiments coloniaux ou dans des corps venus de Bretagne avait fait envisager la possibilité d'une origine coloniale ou bretonne de la maladie. Il ne semble pas que ces hypothèses doivent être retenues.

On sait que la dysenterie est loin d'être rare en France, particulièrement dans l'armée. Elle se manifeste, chaque été, par des cas plus ou moins nombreux, dans certaines garnisons, certains camps, certains régiments.

Pendant l'été de 1914, la maladie ne s'est pas comportée d'une façon différente des étés précédents, et l'Argonne s'est trouvée infectée tout naturellement.

Notons encore que si en temps de paix la dysenterie n'est pas rare en France, elle est fréquente en Allemagne et que, malheureusement et tout particulièrement dans l'Argonne, les deux armées se sont trouvées — au point de vue épidémiologique — étroitement solidaires.

ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE DU BACILLE LE PLUS SOUVENT RENCONTRÉ

Mode d'isolement. — L'examen des selles à l'état frais, pratiqué dans les conditions les plus favorables, aussitôt après l'émission, au lit même du malade, n'a jamais révélé la présence d'amibes, non plus que de parasites animaux (*Balantidium*, *Bilharzia*...) ou d'œufs de parasites (ankylostomes,... etc.) Après coloration, l'examen mettait en évidence des lymphocytes, des leucocytes à noyaux polymorphes, des globules rouges, des cellules épithéliales desquamées et, au milieu de ces éléments, des microorganismes peu nombreux qui, tous ou presque tous, se décoloraient par la méthode de Gram et parmi lesquels prédominait souvent un bacille court à bouts arrondis, parfois à espace clair central, manifestement coliforme. En dehors de cet aspect si caractéristique de la dysenterie bacillaire, l'examen microscopique des matières alvines n'a permis de faire aucune constatation intéressante. Il n'a jamais été observé de formes spirillaires.

L'hémoculture soit en ballon de bouillon, soit en tubes de bile ayant toujours fourni — ainsi du reste qu'il est habituel

dans la dysenterie — un résultat négatif, nous avons eu presque exclusivement recours pour le diagnostic, aux ensemencements de matières dysentériques ou diarrhéiques sur milieux d'Endo, de Drigalski et sur gélose lactosée tournesolée. Nous n'avons pas tardé à donner la préférence à ce dernier milieu.

Des mucosités étaient lavées dans plusieurs tubes d'eau physiologique et, une fois débarrassées des impuretés, broyées au moyen d'une baguette de verre dans l'eau d'un dernier tube. Un agitateur coudé était trempé dans l'émulsion et passé — sans être rechargé — à la surface du milieu nutritif coulé dans trois boîtes de Petri. Après 24 heures d'étuve à 37 degrés, on découvrait au milieu des colonies rouges de Coli-bacille des colonies rondes, surélevées, franchement bleues, qu'il était aisé de prélever et, après un deuxième isolement, de repiquer en bouillon pour les reporter ensuite sur les milieux différentiels. De façon constante ou à peu près constante, ces colonies bleues se montraient d'autant plus nombreuses que le cas clinique présentait plus de gravité ou était plus près de son début. Elles se trouvaient parfois à l'état de culture pure. Très facile à isoler des selles « frai de grenouille », « crachat pneumonique », « crachat purulent », « râclure de boyaux »,... etc., le bacille dysentérique se rencontrait fréquemment encore dans les flocons muqueux que renfermaient les selles glaireuses, verdâtres ou jaunâtres. Il s'isolait avec plus de difficulté des matières fécaloïdes. Nous avons pu néanmoins, à différentes reprises, l'y mettre en évidence.

Des ensemencements quotidiens nous ont montré qu'il disparaissait très rapidement au cours de la convalescence. Il va de soi que cette difficulté à isoler le bacille dysentérique des matières fécaloïdes, ne veut pas dire que celles-ci ne le renferment plus et ne saurait être fourni, comme argument contre la possibilité de la transmission de la maladie par les malades guéris et les porteurs de germes. Le bacille Coli remplit à l'égard du microbe de la dysenterie un rôle empêchant, analogue à celui qu'il joue vis-à-vis de bacilles voisins, du bacille d'Eberth en particulier. On remarque souvent sur les boîtes de gélose, où les ensemencements sont faits en stries au moyen d'un tube de verre coudé, que les colonies bleues ne se rencontrent pas au niveau des premières traînées. C'est seule-

ment au niveau des dernières, lorsque les colonies rouges sont très espacées, que le microbe apparaît.

Quoi qu'il en soit de ces particularités, les colonies de bacilles dysentériques, déjà très apparentes sur gélose lactosée au bout de 24 heures, ne tardent pas, si les boîtes sont laissées à l'étuve, à acquérir le diamètre d'une lentille, voire d'un pain à cacheter.

Il est fréquent de voir leur centre prendre une teinte jaune, alors que la périphérie demeure très bleue. L'opposition entre les deux teintes est des plus nettes. S'étendant en surface beaucoup plus qu'en hauteur, les colonies de bacille dysentérique demeurent toujours très peu saillantes.

MORPHOLOGIE

Examiné sans coloration, le bacille de la « dysenterie de l'Argonne » est nettement, quoique faiblement, mobile. Il est animé d'un simple mouvement d'oscillation qui peut se comparer à celui de l'aiguille d'une boussole.

Il se colore très facilement à l'aide des couleurs basiques d'aniline. Il apparaît alors sous forme d'un bacille coliforme dont les dimensions sont identiques à celles des dysentériques de Shiga ou de Flexner, c'est-à-dire d'un bâtonnet court, trapu, de 1 à 3 μ de long, arrondi à ses extrémités. Il est fréquent qu'il présente en son centre un espace clair. Il se décolore par le Gram. Les formes d'involution sont rares. On observe parfois quelques filaments. Jamais de spores.

CARACTÈRES DE CULTURE

Repiqué de la gélose lactosée tournesolée en *bouillon ordinaire* ou en *bouillon Martin*, le bacille de la dysenterie de l'Argonne donne un trouble uniforme avec production d'ondes moirées. Le développement commence à s'effectuer au bout de 3 ou 4 heures. Cette limite peut même être abaissée à 1 heure et demie si on ensemence un bouillon déjà porté à la température de l'étuve, c'est-à-dire à 37 degrés. Ce développement est sensiblement aussi rapide que celui des bacilles de Flexner et de Hiss et un peu plus précoce que celui du bacille de Shiga.

Après 48 heures, un léger dépôt se forme au fond du tube. Il n'y a jamais formation de voile.

En bouillon ascite, le trouble est plus marqué et on observe déjà au bout de 24 heures, un dépôt au fond du tube à essai. Pas de voile.

Sur gélose peptone Martin, les colonies sont rondes, surélevées, grisâtres. Elles ont un aspect gris bleuté sur gélose-ascite et gélose à l'œuf.

Sur gélatine, les colonies sont formées par un enduit gris bleuté. Elles se développent en deux jours. L'ensemencement par piqûre en gélatine en culot donne naissance, après deux ou trois jours, à de petites colonies grises. Aucune liquéfaction.

Sur pomme de terre, on observe un enduit peu abondant, incolore et légèrement visqueux. L'aspect est identique à celui que donne le bacille d'Eberth. Il est, du reste, susceptible de varier dans des limites assez étendues suivant la race de pomme de terre employée.

Le lait n'est pas coagulé, même après un séjour prolongé à l'étuve et un chauffage à 70 degrés.

Le petit lait de Petruschki n'est pas viré ou ne l'est que très légèrement.

En bile, on observe un trouble uniforme avec formation d'ondes.

Les résultats de l'ensemencement en bouillon au rouge neutre varient un peu suivant la quantité d'indicateur ajoutée. Dans les tubes faiblement teintés (3 anses d'une solution à 10 p. 100 pour 8 cent. cubes de bouillon), on observe une fluorescence différant légèrement d'intensité suivant les échantillons, mais toujours très nette. Le bouillon additionné d'une plus grande quantité de rouge (un vingtième de centimètre cube de la même solution) prend une teinte simplement orangée ou n'est pas influencé. Le bouillon plus fortement coloré encore (2-3 gouttes, formule de Savage) conserve, même après un séjour prolongé à l'étuve, sa teinte initiale. Des faits analogues s'observent, du reste, avec plusieurs microbes du groupe Coli.

Sur gélose en culot additionnée de sous-acétate de plomb, on n'observe aucune coloration noire.

Anaérobie facultatif, le microbe dysentérique pousse en gélose Veillon sous forme de petites colonies rondes à bords

très nets. Le centre légèrement opaque présente une coloration grisâtre.

CARACTÈRES BIOLOGIQUES

Le bacille dysentérique est facultativement aérobie et anaérobie. Suivant les échantillons, il ne forme pas ou ne forme que très peu d'indol. Ses cultures ne renferment pas d'hémolysine (1).

Le bacille fait fermenter le glucose, la mannite, le lévulose, le galactose. Il est sans action, au contraire, sur le lactose, le saccharose, le maltose et la dulcite. Ces caractères de fermentation sont absolument constants quel que soit l'échantillon considéré. Ainsi que l'indique le tableau suivant, ils sont de nature à distinguer le bacille isolé dans l'Argonne des bacilles de Shiga, de Flexner, de Strong et à le rapprocher, au contraire, du bacille Y de Hiss.

	SACCHAROSE	MALTOSE	MANNITE
Shiga	—	—	—
Flexner	+	+	+
Strong	—	+	+
Hiss	—	—	+
Bacille de l'Argonne . . .	—	—	+

Le bacille dysentérique isolé dans l'Argonne est sensible à l'action de la température. Une culture de 25 heures en bouillon est tuée en 25 à 30 minutes dans un bain-marie à 58 degrés.

Il ne se développe pas sur une gélose où il s'est développé une première fois et qui ensuite a été grattée, non plus que sur des géloses où ont poussé d'autres dysentériques du groupe Flexner (bacille de Flexner, bacille de Hiss).

AGGLUTINATIONS

Sérums expérimentaux.

Même à 1/50, des sérums expérimentaux doués du pouvoir agglutinant 1/4000 : anti-Eberth, antiparatyphique A ou B et

(1) Des cultures en bouillon âgées de cinq jours sont mises en contact avec des globules de lapin lavées à raison de 1 cent. cube de culture pour 1 cent. cube de globules. Pas d'hémolyse.

anti-Shiga, n'exercent sur le microbe de la dysenterie de l'Argonne aucune action agglutinante.

Au contraire, un sérum anti-Hiss doué du même pouvoir agglutine les divers échantillons à un taux variant entre 1/500 et 1/4000 (13 échantillons à 1/2000, 7 à 1/1000, 3 à 1/500; 2 à 1/4000) et un sérum anti-Flexner (pouvoir agglutinant 1/2000) agglutine 9 échantillons à 1/2000, 5 à 1/1000, 3 à 1/500, 8 à 1/200).

De même encore, le sérum d'un lapin immunisé contre l'un des échantillons du bacille de l'Argonne (microbe 7) sérum d'un pouvoir agglutinant égal à 1/1000 (nous n'avons pu atteindre un taux supérieur), agglutine les autres souches à des taux variant de 1/250 à 1/750 (2 échantillons à 1/750; 9 à 1/500; 13 à 1/250). Le sérum de ce même lapin agglutine également à 1/3000 le bacille de Hiss et à 1/2000 le bacille de Flexner. Il est sans action sur le bacille de Shiga.

Sérums de malades.

Plus intéressante est l'action sur notre microbe dysentérique du sérum des malades. Le sérum des sujets atteints d'une affection autre que la dysenterie ou celui des sujets sains est sans action sur lui. Trente personnes, saines ou atteintes des affections les plus diverses (fièvre typhoïde, congestion pulmonaire, ictère catarrhal, oreillons, scarlatine, pneumonie, méningite cérébro-spinale, rougeole, érysipèle..., etc.), nous ont donné des agglutinations négatives, égales à 1/10 ou exceptionnellement (4 observations) à 1/25. Nul pendant les premiers jours de la dysenterie, le pouvoir agglutinant se développe peu à peu; au 10e, au 15e jour de l'affection, il atteint d'ordinaire 1/50, 1/75 et il est susceptible de s'élever à 1/100 et davantage au cours de la convalescence. Ce pouvoir agglutinant s'étend à toutes les souches extraites des selles des différents malades. Il arrive, mais il n'est pas constant que le microbe du malade même soit agglutiné à un taux plus élevé que les autres échantillons.

Obs. I. — Le sérum du malade D..., obtenu le jour même de l'entrée à l'hôpital, au 4e jour d'une dysenterie moyennement intense (18 janvier) n'agglutine aucun des échantillons : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. Le sérum recueilli le

jour de la sortie, le 31 janvier, agglutinait ces mêmes échantillons à 1/75. L'un d'eux était agglutiné à 1/100.

Obs. II. — Le 25 janvier, au moment de l'entrée à l'hôpital, le sérum du soldat Le G..., malade depuis 8 jours, n'exerce encore aucune action agglutinante sur les échantillons 5, 6, 7, 8, 13. Le 7 février, ces différents germes sont agglutinés à des taux variant de 1/25 à 1/75, ce dernier chiffre étant celui du microbe 13 extrait des selles mêmes de Le G...

Obs. III. — Le 5 janvier, l'échantillon 1, qui vient d'être isolé des selles du soldat G..., n'est même pas agglutiné à 1/18 par le sérum du malade, au début d'une dysenterie de moyenne intensité. Dix jours plus tard, le sérum de cet homme qui entre en convalescence agglutine l'échantillon 1 à 1/50. Il agglutine au même taux les échantillons 2, 4, 5, 7, retirés des selles d'autres patients.

Bien que l'agglutination n'acquière qu'à titre exceptionnel dans la dysenterie une intensité analogue à celle qui s'observe dans d'autres affections, la fièvre typhoïde en particulier, elle est parfaitement capable d'être appliquée au diagnostic de la maladie. Elle nous a rendu en particulier de grands services pour le dépistage de dysenteries atypiques ou pour le diagnostic rétrospectif.

Toutes réserves faites au sujet de la possibilité d'agglutinations retardées, le pouvoir agglutinant est susceptible de faire défaut dans des cas bénins. Nous l'avons également vu manquer dans quelques cas très graves où les forces défensives de l'organisme paraissaient complètement annihilées.

En même temps que pour le microbe de la dysenterie de l'Argonne, il apparaissait chez nos malades des propriétés agglutinantes pour le bacille de Hiss, auquel il semble que notre bacille dysentérique doive être rattaché, et pour le bacille de Flexner, microbe du même groupe. A l'égard du bacille de Shiga, ces mêmes propriétés agglutinantes ont toujours fait défaut.

A l'égard du bacille de Hiss les propriétés agglutinantes se sont, dans la grande majorité des cas, montrées plus énergiques qu'à l'égard du microbe de l'Argonne lui-même. Cette différence d'agglutinabilité trouve vraisemblablement une explication dans ce fait que le bacille de Hiss était un microbe de collection, entretenu depuis longtemps par repiquages à l'Institut Pasteur, tandis que nos bacilles dysentériques provenaient directement de l'organisme.

Beaucoup plus exceptionnelle et beaucoup moins intense, s'est toujours montrée l'agglutination du bacille de Flexner. Nous ne l'avons jamais vu dépasser 1/50. On sait que ce micro-organisme est susceptible d'être agglutiné à ce taux par le sérum de certains sujets sains. Nous avons, en effet, souvent observé l'agglutination du bacille de Flexner par le sérum de non-dysentériques à des taux variant entre 1/10 et 1/50. Nous ne l'avons jamais notée au-dessus de ce chiffre. Nous ne retenons naturellement ici que les cas où cette cause d'erreur n'existait pas.

Obs. I. — A leur entrée à l'hôpital le sérum des malades G... et C... n'exerce à l'égard du bacille de Flexner aucune action agglutinante. Le pouvoir agglutinant est recherché à nouveau la veille de leur départ en convalescence. Il s'élève à 1/40.

Obs. II. — Le malade C... n'agglutine pas le bacille de Flexner à son entrée à l'hôpital. Au cours de la maladie (dysenterie de moyenne intensité), le pouvoir agglutinant s'élève à 1/50.

Obs. III. — Le malade D... agglutine le bacille de Flexner à 1/10 à son entrée à l'hôpital. Il l'agglutine à 1/50 à sa sortie.

Au cours de la maladie ou de la convalescence, nous n'avons jamais vu apparaître à l'égard du bacille de Shiga la moindre propriété agglutinante. Le malade D..., qui n'agglutinait pas ce bacille à l'entrée, ne l'agglutinait pas davantage à la sortie. Le sérum des malades G... et P..., qui à l'entrée exerçait à l'égard du bacille de Shiga un pouvoir agglutinant égal à 1/10, exerçait à leur sortie une action agglutinante rigoureusement identique.

Sensibilisatrice.

Des résultats de l'agglutination, nous devons rapprocher ceux fournis par la recherche de la déviation du complément. Le sérum de nos malades contenait une sensibilisatrice vis-à-vis du bacille de la dysenterie de l'Argonne. L'action des ambocepteurs s'exerçait également vis-à-vis des bacilles de Hiss, de Flexner et de Shiga. L'absence de déviation n'a été constatée que dans quelques cas de dysenterie très bénigne.

Inoculation aux animaux.

Le microbe de la dysenterie de l'Argonne s'est montré pour le cobaye et le lapin — les seuls animaux auxquels nous ayons pu l'inoculer — fort peu pathogène et fort peu toxique.

2 à 10 cent. cubes d'une culture jeune en bouillon inoculés sous la peau du cobaye déterminent au point d'inoculation soit de l'œdème, soit une escarre. L'animal maigrit pendant quelque temps, puis ne tarde pas à se remettre.

L'inoculation intrapéritonéale de 2 cent. cubes de la même culture paraît laisser le cobaye indifférent. Les doses massives seules provoquent une péritonite mortelle. Des essais de contamination de jeunes lapins par ingestion ont abouti à un résultat négatif.

L'animal adulte qui a reçu sous la peau 10 cent. cubes de culture jeune en bouillon ne présente — tout comme le cobaye — qu'une lésion locale (œdème ou escarre). Il maigrit pendant quelques jours, puis se remet.

Aux doses de 10 et de 20 cent. cubes, les cultures tuées par la chaleur (une demi-heure à 58 degrés) ou centrifugées et traitées par quelques gouttes de chloroforme n'agissent pas de façon différente. Il se produit une simple lésion locale. Les phénomènes généraux sont réduits à fort peu de chose (élévation de température, dyspnée) ou même font complètement défaut.

En somme, le bacille de la dysenterie de l'Argonne paraît se comporter à l'égard des animaux d'expériences comme le bacille de Flexner, mais nous n'avons pu, faute de matériel, pousser son étude expérimentale aussi loin que nous l'aurions voulu.

DEUXIÈME VARIÉTÉ DE BACILLE DYSENTÉRIQUE DANS LA DYSENTERIE DE L'ARGONNE

Du bacille dysentérique que nous venons de décrire, nous avons au total recueilli 25 échantillons. Ils ont été comparés entre eux au point de vue morphologique, biologique, cultural... etc. Leurs attributs essentiels, leurs caractères de

fermentation des sucres en particulier, sont identiques. Les différentes souches ne se distinguent les unes des autres que par des nuances fort peu sensibles : cultures plus ou moins visibles sur pomme de terre, traces plus ou moins appréciables d'Indol en bouillon peptone Martin, fluorescence légèrement différente du bouillon au rouge neutre, teinte plus ou moins rouge du petit lait de Petruschki et surtout agglutination plus ou moins forte sous l'influence d'un sérum expérimental anti-Flexner ou anti-Argonne (échantillon n° 7). Tous ces germes doivent être tenus pour extrêmement voisins du bacille de Hiss, sinon pour complètement identiques à lui. Seule la résistance des cas cliniques à l'action thérapeutique d'un sérum polyvalent (anti-Hiss pour 1/4), pourrait être un argument contre ce rattachement.

C'est un fait bien connu dans l'épidémiologie de la dysenterie qu'au cours d'une épidémie sévissant sur une collectivité, on peut observer des cas causés par des bacilles distincts, par exemple par des bacilles de Shiga et de Flexner. Les deux germes peuvent même coexister chez un même malade. En particulier, MM. Dopter et Sicre ont mis en lumière cette particularité qu'une épidémie globale de garnison peut être constituée en réalité par plusieurs épidémies isolées reconnaissant chacune une étiologie microbienne différente. Nous avons observé au cours de l'épidémie de l'Argonne un fait de tous points comparable. Alors que la très grande majorité des cas était causée par le bacille de Hiss, nous avons recueilli deux observations qui, cliniquement, se distinguaient des autres par une gravité plus grande, et qui, bactériologiquement, relevaient d'un microbe identique — aux caractères d'agglutination près — à celui de Shiga.

Voici résumées ces deux observations :

Obs. I. — *Dysenterie grave à bacille para-Shiga.*
Forme longue et traînante. Guérison.

H... (Léon), vingt-neuf ans, soldat de 2e classe, au 51e de ligne, tisserand avant l'incorporation. Entré à l'hôpital Valmy, à Sainte-Menehould, le 6 janvier 1915.

Les antécédents ne présentent aucune particularité intéressante. H... a été exempté du service militaire pour « faiblesse de constitution ». Néanmoins, il n'avait jamais été malade avant l'affection actuelle.

Il a été mobilisé le 9 octobre et a passé tout d'abord deux mois à Lorient.

Il ne se trouve dans l'Argonne que depuis trois semaines. Dans les tranchées, il a souffert du froid, ce qui est attesté par la coexistence de gelures du 1er degré à la face dorsale et au bord interne des deux pieds.

Les aliments ne lui parvenaient qu'une fois par jour et froids. Il n'a pas bu d'eau. Le vin et le café qu'il recevait lui suffisaient. Personne autour de lui ne semble avoir contracté la dysenterie.

H... est tombé malade brusquement, sans cause connue, dans la nuit du 2 au 3 janvier. La diarrhée a revêtu d'emblée le caractère dysentérique. Les selles, précédées de coliques, suivies d'épreintes et de ténesme, étaient fort peu copieuses mais très nombreuses (une dizaine dans la nuit du 3 au 4, une trentaine dans la journée du 4). Elles n'ont pas tardé à se produire involontairement, à s'accompagner d'état saburral, d'anorexie, de nausées, d'amaigrissement et de perte de forces, en sorte que le malade a dû, le 6 janvier, être dirigé sur l'hôpital.

Le lendemain, on est frappé par l'atteinte profonde de l'état général. Le malade est très faible, très amaigri et son facies respire une vive souffrance. Apyrexie.

La langue est saburrale. Vive sensation de soif. Anorexie absolue. Ni nausées, ni vomissements, coliques douloureuses péri-ombilicales. Une vingtaine de selles par jour, du volume d'une cuillerée à soupe, de couleur jaune très clair et contenant en suspension du sang et du mucus. Epreintes, ténesme. Les faux besoins sont très fréquents. Les selles involontaires ont cessé depuis l'entrée à l'hôpital. Pas de gène de la miction.

Le ventre est souple et légèrement rétracté en bateau. La palpation du creux épigastrique et de la fosse iliaque gauche est douloureuse. On sent l'S iliaque dur et contracté.

Foie et rate normaux. Rien au cœur ni aux poumons. Céphalée frontale. Un peu de vertige et d'insomnie.

Au microscope, l'examen des selles montre les cellules épithéliales, les globules rouges et la vive réaction leucocytaire habituelle à la dysenterie bacillaire : quelques bacilles coliformes, peu mobiles, à espace clair central.

Les ensemencements sur gélose lactosée tournesolée et sur milieu de Conradi donnent en très grande abondance, au milieu de rares colonies de colibacille, un micro-organisme possédant les caractères généraux du bacille de Shiga et qui sera étudié en détail.

Le sérum du malade n'exerce même à 1/10 aucune action agglutinante sur le bacille d'Eberth, les paratyphiques A et B, les dysentériques de Shiga et de Flexner.

Traitement. — Bouillon, lait, potion à base de sulfate de soude.

Les jours suivants, l'état demeure stationnaire. H... continue d'avoir dans les vingt-quatre heures une vingtaine de selles de caractère dysentérique. Particularité constatée chez la plupart des autres malades, le plus grand nombre de ces évacuations se produit la nuit. Le ventre rétracté en bateau est toujours douloureux au creux épigastrique et dans la fosse iliaque gauche où l'S iliaque donne la sensation d'une corde.

Le sérum n'exerce, même à 1/10, d'action agglutinante ni sur le germe (du groupe du Flexner) isolé des matières fécales des autres dysentériques du service, ni sur le microbe du type Shiga isolé des selles de H... lui-même.

12 *janvier.* — On note une légère amélioration. Le chiffre des selles descend à 15. Leur caractère dysentérique persiste.

Vers le 16 janvier, elles tombent à 8 et deviennent fécaloïdes; la langue se nettoie: le malade se sent un peu d'appétit. La douleur, à la pression du ventre, disparaît. L'état général laisse toujours beaucoup à désirer. La faiblesse et l'amaigrissement, qui s'est beaucoup accentué, sont extrêmes.

L'alimentation est reprise petit à petit avec les précautions d'usage.

Le sérum de H... (2e saignée) continue à être complètement dépourvu de propriétés agglutinantes.

20 *janvier*. — Bien que le malade, très docile, ne commette d'imprudence d'aucune sorte, sa diarrhée persiste, elle prend une allure traînante et paraît devoir passer à l'état chronique. 5-6 selles par jour.

Le 30 janvier, H... est évacué sur un hôpital de l'intérieur, diarrhéique encore et toujours très faible et très amaigri. Avant son départ, il avait été saigné une 3e fois et il avait été constaté que, pas plus que le jour de l'entrée à l'hôpital, ou au milieu de la période d'état, le sérum n'exerçait d'action agglutinante sur les divers bacilles dysentériques, en particulier sur le bacille extrait des selles mêmes du malade.

Obs. II. — *Dysenterie grave à bacille para-Shiga.* 810 *cent. cubes de sérum polyvalent. Aucune amélioration des symptômes cliniques ou des constatations bactériologiques. Ultérieurement guérison.*

C... (Louis), trente-deux ans, soldat de 2e classe au 161e régiment d'infanterie. Cultivateur avant l'incorporation. Entré à l'hôpital de contagieux de Condé-en-Barrois, le 26 février 1915.

Antécédents sans intérêt. A été exempté du service militaire pour une adénite cervicale dont il ne reste plus trace. Mobilisé au mois de novembre, a joui d'une bonne santé jusqu'à il y a 5 jours. Attribue sa maladie au froid et à l'alimentation carnée. Cultivateur en Bretagne, il n'était pas habitué à manger de viande.

Le 27 *février* au matin, C... se trouve dans un état très grave. Il est hébété et répond avec les plus grandes difficultés aux questions posées. Pouls mou, dépressible, fuyant, à 100 pulsations. Température : 37°4.

Le malade se plaint d'une diarrhée très douloureuse. Les selles sont impossibles à compter et se produisent presque toujours malgré la volonté du sujet. Une d'elles que nous recueillons est très peu abondante (une cuillerée à café environ) et répond au type bien connu du « crachat pneumonique ». Au microscope on trouve du mucus, des cellules épithéliales, des globules rouges, des globules blancs, des micro-organismes très peu nombreux, peu mobiles, coliformes, souvent à espace clair central, se décolorant par le Gram.

Le ventre, souple, creusé en bateau, est douloureux au niveau du creux épigastrique et de la fosse iliaque gauche.

Dès l'entrée du malade, on lui injecte 100 cent. cubes de sérum antidysentérique polyvalent.

28 *février*. — C... ne se trouve pas mieux. Il n'a pas dormi. Depuis la visite d'hier, il a eu 52 selles, précédées de coliques, suivies d'épreintes et de ténesme. Plusieurs selles involontaires.

Langue saburrale. Vive sensation de soif. Ni vomissements, ni nausées.

La douleur du creux épigastrique et de la fosse iliaque gauche persiste inchangée. La température décrit de grandes oscillations, entre 37 et 39 degrés. Le pouls se relève.

Les ensemencements, pratiqués la veille sur gélose lactosée, ont donné

presque en culture pure, un bacille, que son action à l'égard des sucres paraît devoir rattacher au bacille de Shiga et qui sera étudié en détail.

120 cent. cubes de sérum anti-dysentérique,

1er *mars*. — 44 selles d'aspect toujours franchement dysentérique. Langue rôtie. Soif persistante. Apparition de hoquets et de nausées. Faux besoins. Selles involontaires. Un peu de dysurie. Le ventre est toujours douloureux, le long du côlon, que l'on sent tendu à la façon d'une corde. Perte de force. Amaigrissement.

Le sérum du malade n'agglutine ni le bacille de Shiga, ni le bacille de Flexner, ni le bacille de la dysenterie extrait des selles des autres malades du service, ni le microbe isolé chez C... lui-même. L'hémoculture donne un résultat négatif.

120 cent. cubes de sérum.

2 *mars*. — 40 selles mousseuses et, à ce caractère près, ressemblant à un pus de vomique.

Le hoquet: les nausées et tous les signes subjectifs et objectifs notés la veille, persistent. L'urine renferme des traces d'albumine.

La seule amélioration constatée a trait à la température qui est descendue à la normale.

120 cent. cubes de sérum.

3 *mars*. — 39 selles à l'aspect de crachat purulent. La soif, l'anorexie, le hoquet, les nausées, les épreintes, le ténesme persistent. Le malade a encore eu des selles involontaires.

120 cent. cubes de sérum.

4 *mars*. — 35 selles identiques à celles des jours précédents.

Le malade est très faible et très amaigri. Les nausées et les vomissements ont cessé. Le hoquet persiste.

120 cent. cubes de sérum.

5 *mars*. — 28 selles. Reprise des vomissements.

110 cent. cubes de sérum, ce qui porte à 810 cent. cubes la quantité totale injectée.

6 *mars*. — 28 selles, toujours à l'aspect de crachat purulent. L'examen microscopique dénote un aspect identique à celui constaté à l'entrée.

De même les ensemencements sur gélose lactosée tournesolée, montrent comme au premier jour du bacille dysentérique, presque à l'état de pureté.

Le malade a la même langue rôtie, la même soif, la même anorexie. Le hoquet se manifeste encore par intermittences.

Les épreintes, le ténesme, les faux besoins, les selles involontaires persistent inchangées.

Suspension du sérum anti-dysentérique.

Le sérum de C... continue à n'agglutiner aucun germe dysentérique, pas même celui isolé des selles du malade.

7 *mars*. — 25 selles. Quelques débris fécaloïdes sont mélangés au mucus purulent qui jusqu'à présent formait seul les matières.

Le malade se sent un peu mieux. Il n'a plus ni hoquet, ni nausées, et vomissements. Les selles sont moins douloureuses. Encore quelques faux besoins et quelques selles involontaires.

8 *mars*. — 15 selles seulement. Elles sont franchement fécaloïdes, mais semées encore de trainées muqueuses.

C... se sent beaucoup mieux.

9 *mars*. — 13 selles.

10 *mars*. — 10 selles. L'amélioration continue. Les jours suivants elle

s'accentue encore. Le malade a, par jour, 4 à 6 selles fécaloïdes et celles-ci ne renferment plus que très peu de mucus. Il paraît être en bonne voie de guérison, lorsque nous quittons Condé, le 22 mars.

La veille de notre départ, C... est saigné une dernière fois. Son sérum est toujours complètement dépourvu de propriétés agglutinantes.

Chez ces deux malades, il a été isolé un microbe identique qui, à côté des attributs généraux des bacilles dysentériques, possédait les caractéristiques suivantes : sur gélatine inclinée, il donnait une couche légère, presque identique à celle que fournit le bacille typhique. Sur pomme de terre, c'était un enduit peu épais et légèrement jaunâtre. Le lait n'était pas coagulé et la teinte du lait tournesolé n'était nullement modifiée. Il ne donnait en bouillon, additionné de rouge neutre, aucune fluorescence. Le petit lait de Petruschki, très faiblement viré tout d'abord, redevenait ensuite légèrement bleu. En eau peptonée, il y avait production d'une quantité appréciable d'indol.

Les bouillons glucosé, galactosé, lévulosé viraient au rouge, sans qu'il y eût de production de gaz. Au contraire, le microbe se montrait tout à fait sans action sur le lactose, le saccharose, la mannite, le maltose, la dulcite.

A côté de ces caractères, de nature à rapprocher ce germe du bacille de Shiga, nous devons noter une inaptitude absolue à se laisser agglutiner. Un sérum expérimental anti-Shiga, agglutinant à 1/4.000, n'exerçait, même à 1/10, aucune action sur lui. Les sérums expérimentaux anti-Flexner, anti-typhique, anti-paratyphique se comportaient de façon identique.

Même le sérum des deux malades H... et C..., qu'il eût été prélevé au cours de la maladie ou au début de la convalescence, demeurait inefficace (1). A plus forte raison, l'agglutination faisait-elle défaut à l'égard des bacilles de Flexner, de Hiss et de nos 25 échantillons du bacille de la dysenterie de l'Argonne. Le séro-diagnostic n'est donc pas applicable au dia-

(1) On sait qu'au cours de la dysenterie à bacille de Shiga, le pouvoir agglutinant est susceptible de s'élever à un taux considérable, qui peut se maintenir plusieurs années après la guérison. Au cours de nos recherches, un malade qui agglutinait le bacille de Shiga, à 1/75, avait, cinq ans auparavant, souffert d'une dysenterie, en Chine. Chez un autre, une agglutination à un taux sensiblement identique se rapportait manifestement à une dysenterie contractée il y a un an, en Chine également.

gnostic de cette variété de dysenterie, comme il l'est au diagnostic de la dysenterie à bacille de Hiss.

Si le sérum de ces malades ne renfermait pas d'agglutinines, il contenait, au contraire, une sensibilisatrice et la déviation du complément donnait un résultat positif quel que fût l'antigène employé : bacilles de Shiga, de Flexner, de Hiss, bacilles dysentériques des malades de H... et C..., ou bacilles de Hiss en provenance de l'Argonne.

Comparé à ce dernier microbe, ce germe s'est montré beaucoup plus pathogène et plus toxique. A la dose de 2 cent. cubes sous la peau, de 1 cent. cube dans le péritoine, il tuait en deux jours un cobaye de 500 grammes. A l'autopsie, l'intestin apparaissait vivement congestionné. Le microbe était retrouvé dans le sang et les organes.

De même, le produit de raclage de 2 cultures sur gélose, émulsionné dans 10 cent. cubes d'eau physiologique et tué par chauffage à 58 degrés, inoculé sous la peau d'un lapin, détermine une escarre volumineuse, de plusieurs centimètres de diamètre. Lorsqu'elle se détache, les muscles de la paroi n'existent plus, le fond de la plaie suppurante est formé par l'aponévrose profonde qui recouvre le péritoine. L'inoculation d'une dose plus forte (20 cent. cubes) amène en 48 heures la mort de l'animal. L'inoculation sous-cutanée d'une émulsion centrifugée, décantée, puis traitée par quelques gouttes de chloroforme, produit des effets absolument identiques.

On voit que, si le microbe retiré des selles de nos deux malades se rapproche du bacille de Shiga, par son action sur les sucres et les effets de son inoculation aux animaux, il en diffère, au contraire, par ses caractères d'agglutination et aussi par quelques-unes de ses propriétés biologiques (production d'une quantité appréciable d'indol). Si nous ajoutons à ces faits qu'un sérum polyvalent (composé pour une moitié de sérum anti-Shiga) se soit dans un cas (le seul où il ait été essayé) montré totalement dépourvu d'effet thérapeutique, il apparaîtra sans doute que ce microbe mérite de garder une certaine individualité. L'étiquette de « bacille para-Shiga » est de nature à la sauvegarder.

Dans une épidémie sévissant sur un asile d'aliénés, Krüse a trouvé un bacille qui se différenciait de celui de Shiga, en ce

que le sérum des malades n'agglutinait pas le bacille de Shiga, mais l'agglutinait lui. De ce bacille, le nôtre se distingue en ce que, même le sérum des malades ne l'agglutine pas (1).

Sa présence, en très grande abondance (à l'état presque de culture pure dans une observation) dans les selles, sa persistance pendant toute la durée clinique de la maladie, sa disparition, au contraire, dès que la convalescence s'établit, enfin les résultats positifs de la déviation du complément, sont cependant des arguments qui ne permettent pas de douter de son rôle pathogène.

*
* *

Au cours de l'épidémie de dysenterie qui a sévi, cet hiver, sur nos troupes de l'Argonne, il a été en résumé, isolé avec une fréquence très inégale, deux variétés de bacille dysentérique.

Le germe de beaucoup le plus souvent rencontré, présentait — à cela près que la maladie qu'il occasionnait résistait à l'action du sérum anti-dysentérique — tous les caractères du bacille de Hiss.

L'autre — dont nous n'avons recueilli que deux observations — possédait les principaux attributs du bacille de Shiga, mais n'était agglutiné ni par le sérum expérimental anti-Shiga, ni, semble-il, par le sérum des malades. Le sérum polyvalent était également sans action sur la dysenterie qu'il provoquait.

Cette inefficacité du sérum est peut-être de nature — jointe à quelques autres caractères — à faire accorder à ces deux germes une certaine individualité.

(1) Nous devons faire une réserve au sujet de la possibilité de ces agglutinations retardées qui — à titre, il est vrai, tout à fait exceptionnel — se manifestent seulement à une époque éloignée de la convalescence. Séparés de nos malades à ce moment, il nous a été impossible de leur prélever du sang.

DEUXIÈME CAMPAGNE CONTRE LES SAUTERELLES

STAURONOTUS MAROCCANUS THUN.) EN ALGÉRIE, AU MOYEN DU

« COCCOBACILLUS ACRIDIORUM » D'HÉRELLE

par le Dr M. BÉGUET.

(Travail de l'Institut Pasteur d'Algérie.)

L'étude de l'action du *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle sur le Stauronote marocain, commencée en 1913 par l'Institut Pasteur d'Algérie, a été continuée cette année, du 16 avril au 25 juin 1914, dans la même région que l'année dernière, sur 300 kilomètres carrés environ, à Tagremaret, dans le département d'Oran.

La campagne de 1913 (1) avait démontré nettement les faits suivants :

1° On peut acclimater le Coccobacille sur le Stauronote marocain de façon à lui donner une virulence maxima.

2° On peut obtenir une forte mortalité dans les taches de Stauronotes après pulvérisation de cultures virulentes de Coccobacille.

Il s'agissait cette année, en partant d'emblée d'un virus déjà habitué au Stauronote par les expériences précédentes, de rechercher dans quelle proportion la contagion peut se propager naturellement parmi les bandes infectées, quels sont les modes de contamination entre Acridiens et quels sont les résultats pratiques que l'on peut espérer de ce mode de destruction, employé seul ou associé aux mesures mécaniques déjà connues.

(1) Edmond Sergent et Albert Lhéritier, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVIII, n° 4, avril 1914, p. 408.

I

BIOLOGIE DU STAURONOTE MAROCAIN ET MOYENS DE DESTRUCTION EMPLOYÉS D'ORDINAIRE CONTRE LES ACRIDIENS

Le *Stauronotus maroccanus* Thünberg a des mœurs et des conditions d'existence très différentes de celles des *Schistocerca* qui ont servi aux premières expériences de d'Hérelle en Amérique. Nous avons remarqué que ces différences peuvent avoir une grosse influence sur l'application de la méthode biologique et sur ses résultats.

1° *Évolution.* — Le Stauronote marocain ne quitte guère la région des Hauts-Plateaux pendant toute la durée de son évolution et reste de préférence dans le voisinage des collines pierreuses et sèches. Cette particularité, qui le différencie du *Schistocerca*, nettement migrateur, vient de ce fait que les œufs pondus en juin doivent attendre le mois d'avril de l'année suivante pour éclore. Tout œuf qui serait déposé dans un sol meuble et dans une région facilement inondée serait certainement condamné à pourrir. C'est pour cela que les pontes ont toujours lieu dans la terre extrêmement dure où la surface desséchée du sol forme une carapace protectrice pour l'œuf qui doit l'affleurer.

Les éclosions débutent dans les derniers jours de mars pour atteindre leur maximum dans la première quinzaine d'avril et se continuent jusqu'en mai. L'évolution des jeunes criquets se fait par sauts brusques pendant les périodes de chaleur et de soleil, et le moment où ils prennent leurs ailes est assez variable pour cette cause. Mais, généralement, ils commencent à voleter et à s'accoupler vers le 15 mai, et se concentrent pour le grand vol en vue des pontes vers la fin de ce mois ou au commencement de juin. Les pontes enfin sont surtout effectuées dans la deuxième quinzaine de juin et sont complètement terminées en juillet.

Nous avons cherché à déterminer ce que deviennent les Stauronotes après les pontes, car c'est cette période de leur

évolution qui est le moins connue. Nous avons pu nous assurer d'abord que ces pontes sont effectuées en plusieurs endroits par les mêmes bandes. Mais il devient très difficile de les suivre à partir de ce moment, car elles se dispersent par grands vols qui errent sur les Hauts-Plateaux, quelquefois à de trop grandes distances pour que l'on puisse savoir ce qu'elles sont devenues. Il est bien certain que les sauterelles ne meurent pas en masse après les pontes comme nous l'avons entendu dire quelquefois. Les unes restent sur place, ou tourbillonnent dans la même région; d'autres s'en vont brusquement très loin pour revenir quelques jours après. Beaucoup enfin, parvenues au terme de leur évolution, doivent mourir isolément dans les rochers et les déserts rocailleux, ou devenir une proie facile pour leurs ennemis. Leur nombre diminue de la sorte pendant tout l'été, et celles qui restent cherchent dans les plaines d'alfa les bribes de végétation résistante qu'elles peuvent y trouver. On nous a affirmé en avoir vu encore au commencement d'octobre. Mais elles n'attirent plus l'attention, puisque les moissons sont finies, et il est inutile de lutter contre elles, puisqu'elles ont déjà pondu.

2° *Orientation.* — Le Stauronote n'a pas de direction fixe : il est erratique, c'est-à-dire qu'il se déplace toujours dans une même région, en n'ayant pour guide que les besoins du moment.

Jeune, il dévale les pentes des collines où il vient d'éclore, sans se grouper autrement que par masses plus ou moins denses suivant le même versant ou la même vallée. A ce stade il suit les chemins faciles et se nourrit de la végétation naturelle, évitant même quelquefois les champs de céréales.

Sur le point de devenir sauterelle, il semble montrer une tendance à rechercher la verdure et à se former en véritables colonnes. A ce moment, pris d'une énergie nouvelle il franchit tous les obstacles, pour se jeter dans les champs cultivés et on assiste à une série de concentrations locales des bandes jusque là dispersées.

Au moment de l'accouplement, le Stauronote commence à rechercher quelquefois les terrains pierreux et secs. Nous en avons vu une bande s'abattre près d'un champ d'orge dans un

endroit inculte, et s'envoler quelques jours après sans avoir pénétré dans les cultures qui n'étaient éloignées que de quelques mètres.

Quand la sauterelle va pondre, cette tendance semble devenir la règle. Toutes les bandes de la région, après s'être réunies en un seul grand vol, effectuent une série d'étapes vers les collines arides et les terrains secs avec quelques hésitations et quelques changements dans la direction suivie, comme si elles recherchaient l'endroit le plus favorable pour y grouper leurs pontes. Enfin, les lieux propices une fois trouvés, les Stauronotes restent à peu près à la même place, jusqu'à la fin des pontes, en tourbillonnant au-dessus de la région choisie.

Donc, contrairement à ce qui se passe pour le *Schistocerca peregrina*, on ne peut pas s'attendre à une marche en avant régulière. Une colonne de Stauronotes peut changer brusquement de direction et même retourner en arrière, abandonnant un champ très fertile où la pâture était assurée pour longtemps.

3° *Nourriture.* — Le Stauronote n'est pas très vorace et choisit sa nourriture. Il prend les feuilles les plus tendres, laisse les tiges trop dures et continue son chemin. Il mange surtout ce qui est à sa portée et préfère une branche tombée à une plante encore debout. Il peut le faire d'ailleurs, car la densité des taches ne nécessite pas une utilisation plus complète des ressources qu'il rencontre; c'est pourquoi il laisse beaucoup derrière lui et fait surtout du mal parce que les céréales qu'il « grignotte » sont aussi bien perdues que si elles étaient dévorées en totalité.

Ce fait nous a paru intéressant à signaler, car si l'on répand sur les pâtures un bouillon destiné à infecter les criquets, une assez forte proportion peut ne pas être utilisée et se perdre.

Le Stauronote est peu cannibale, probablement parce qu'il n'a pas besoin de recourir à ce moyen pour se nourrir, étant données sa faible voracité et l'abondance relative des pâtures. Il ne le devient guère qu'en captivité, au bout de quelques jours. Néanmoins, nous avons constaté le fait en plein champ, à plusieurs reprises, au cours de la dernière mue. Il n'est pas impossible que cette pratique se généralise dans les taches très

denses, mais nous n'avons pas eu l'occasion de la voir devenir une règle.

4° *Application au Stauronote marocain des moyens mécaniques employés pour la destruction des Acridiens.* — Tous les procédés utilisés contre les Acridiens tendent à les refouler en masse vers un point où l'on peut les détruire par un moyen physique ou chimique quelconque.

Le Stauronote, beaucoup plus agile et plus indépendant que le *Schistocerca*, est plus difficile à combattre par de tels moyens. Il saute par-dessus les plaques de zinc de 33 centimètres de hauteur, employées contre les criquets pèlerins, et ses colonnes éparses et clairsemées échappent facilement aux barrages qui doivent les cerner. Il n'y a guère que le feu qui pourrait les empêcher de passer sur une grande étendue, mais il est dangereux en Algérie, à cause des broussailles, et demande trop de combustible.

Le meilleur moyen consiste à s'attaquer séparément à de petites portions de terrain recouvertes par les criquets, et à détruire ceux-ci par un groupement local. Une cinquantaine d'hommes munis de feuillages légers forment des cercles de plus en plus petits, et chassent peu à peu les Stauronotes vers un fossé peu profond, creusé au moment même, où ils sont écrasés aussitôt. Dans les terrains durs et pierreux, on remplace avantageusement le fossé par une « melhafa », sorte de grand drap de couleur grisâtre, où on peut emprisonner et écraser les Acridiens qui sont venus s'y réfugier. En répétant méthodiquement cette destruction, dans toutes les parties de la tache, on peut arriver rapidement à un excellent résultat, mais il faut de nombreux chantiers travaillant constamment. Malheureusement, ces moyens ne sont utilisables que tant que le criquet ne se sert pas de ses ailes ; lorsqu'il vole, on ne peut plus rien contre lui.

Ces moyens sont extrêmement coûteux. Un chantier ordinaire nécessite une centaine d'hommes qui doivent travailler pendant près de deux mois, ce qui fait 6.000 journées de salaire. Si l'on considère qu'il faut souvent plusieurs chantiers pour une seule région, on se rend compte facilement des dépenses nécessaires.

On peut, au lieu de payer les travailleurs à la journée, leur acheter au poids les criquets ramassés par eux à raison d'une dizaine de francs le quintal. Mais c'est par milliers de quintaux que doivent se compter les chiffres définitifs à la fin d'une campagne.

Aussi les moyens mécaniques sont-ils peu ou mal employés dans les pays pauvres, où les cultivateurs préfèrent laisser dévorer leurs récoltes par les Stauronotes que de dépenser en main-d'œuvre une somme quelquefois supérieure à leur bénéfice définitif.

II

EXPÉRIENCES

I. — Exaltation de la virulence du Coccobacille.

Comme l'année dernière, il nous a fallu procéder à des passages successifs de virus par une série de Stauronotes pour relever la virulence du Coccobacille, forcément atténuée par la vie hivernale *in vitro*.

Nous avons d'abord essayé, avant les éclosions normales, de préparer notre virus en utilisant des criquets éclos à l'étuve à 25 degrés, un mois avant leur apparition naturelle dans la région où devaient se faire les expériences; mais la virulence ainsi obtenue sur des criquets « forcés » n'a pas été durable; elle est tout de suite retombée dès qu'on a pu expérimenter sur des criquets normaux, nés à terme. Nous avons donc été obligés de recommencer nos passages sur place aussitôt que les Acridiens ont présenté une taille permettant de les manipuler.

Ces passages ont été faits du 24 avril au 9 mai, soit par le procédé direct de la goutte fécale, soit par le procédé de la goutte fémorale avec isolement sur gélose.

Les Coccobacilles qui ont été utilisés provenaient de plusieurs origines :

1° Race ayant servi aux expériences de 1913 et ayant subi 170 passages au laboratoire après la campagne.

2° Race ayant de même servi aux expériences de 1913, mais provenant d'une sauterelle morte dans les champs pendant cette campagne en mai, et

conservée en culot de gélose avec 2 repiquages seulement jusqu'en avril 1914.

3° Race rapportée d'Amérique par d'Hérelle et ayant subi des passages par *Dicroplus arrogans.*

4° Race isolée par d'Hérelle sur une sauterelle (Stauronote) morte en Grèce, au cours d'une épizootie naturelle (que d'Hérelle suppose peut-être en relation avec des expériences qui auraient été faites en Roumanie à la même époque).

Tous ces Coccobacilles avaient les mêmes caractères en bouillon et en gélose.

Chaque série de passages portait sur 16 criquets semblables prélevés le même jour dans une bande non infectée.

Chaque origine a été étudiée en plusieurs séries par des techniques différentes, et, pour chaque série, il a été fait une trentaine de passages.

Au début, ces Coccobacilles tuaient un Stauronote par inoculation dans la cavité générale en trente ou quarante heures; mais leur virulence se releva assez vite après quelques passages.

Les séries faites avec des Coccobacilles provenant de sauterelles mortes dans les champs et ayant été conservés sans subir de passages au laboratoire ont été nettement les meilleures. La virulence de ces Coccobacilles s'est relevée de façon à tuer un Stauronote par inoculation dans la cavité générale, en trois heures, après 6 passages seulement. Cette virulence s'est ensuite maintenue pendant toute la durée des expériences.

Les autres séries, faites avec des Coccobacilles ayant subi des passages au laboratoire, que ce soit par Stauronote ou par *Dicroplus*, ont présenté une virulence à marche plus longue et moins régulière. Il a fallu 12 à 13 passages pour tuer par inoculation un Stauronote en trois heures, et au cours de ces passages nous avons constaté des changements brusques dans la mortalité.

Ces expériences ont donc montré que l'adaptation du virus au Stauronote marocain, réalisée par la campagne de 1913, *a persisté malgré l'affaiblissement de la virulence pendant la vie hivernale* in vitro, *et qu'on peut obtenir rapidement un virus exalté au maximum, au début de l'évolution des Acridiens.*

II. — Contamination directe, par pulvérisation des taches d'Acridiens.

Toutes les pulvérisations ont été effectuées avec des Coccobacilles d'égale virulence et tuant au laboratoire un Stauronote en trois ou quatre heures, environ.

Grâce à cette fixité des virus employés, nous avons pû obtenir des résultats comparables en expérimentant sur des criquets d'âge différent et dans des lieux différents. Nous avons essayé de déterminer l'âge de moindre résistance et les conditions d'existence du Stauronote susceptibles d'influencer les résultats.

Technique. — Nous avons toujours utilisé un pulvérisateur Vermorel ordinaire, de 12 litres environ. Le bouillon avait voyagé dans des bouteilles de verre munies d'un obturateur à anneau de caoutchouc. Après avoir été nettoyés soigneusement, le goulot et le bouchon étaient flambés fortement avec une lampe à souder, et après l'ensemencement au fil de platine porteur d'une colonie isolée de Coccobacille virulent, l'orifice et l'extérieur du bouchon étaient de nouveau flambés. Les bouteilles étaient ensuite laissées à la température ordinaire, à l'abri toutefois du soleil et de la chaleur, trente-quatre ou trente-six heures et même quarante-huit heures. Le jour de la pulvérisation, elles étaient transportées sur les lieux, munies de paillons et entassées, soit dans des sacs à dos d'homme, soit dans des « chouaris », à dos de mulet. Dans une expérience, elles ont dû être transportées ainsi à une vingtaine de kilomètres du laboratoire.

La pulvérisation était toujours effectuée au crépuscule, dès que le soleil avait disparu derrière les montagnes.

A ce moment, le bouillon était versé sans aucune précaution dans le Vermorel simplement rincé à l'eau froide et on le pulvérisait immédiatement, à raison de 1 litre par hectare de terrain infesté en moyenne.

Nous pulvérisions le bouillon en gouttes très fines, sur toute l'étendue de la tache, un peu sur chaque buisson, pour créer beaucoup de centres de contagion. Quand les buissons naturels étaient insuffisants, dans les champs de maigre culture, nous les remplacions par des buissons artificiels, en déposant seulement de loin en loin de petits tas de *Ferula communis* ou d'*Artemisia herba alba*.

a) *La première expérience a porté sur une tache de criquets jeunes*, située dans un champ d'orge, au voisinage de la route de Mascara à Frenda, vers le kilomètre 58. Cette bande, qui couvrait une superficie de 4 à 5 hectares, assez dense, a été attaquée le 4 et le 7 mai, en pulvérisant chaque fois 3 litres de bouillon. Le 10 mai, les criquets qui s'avançaient dans la direc-

tion de Mascara s'arrêtèrent au niveau du kilomètre 57,6. Nous commençâmes à constater la présence de nombreux morts dans le fossé bordant la route et sous les buissons avoisinants. On pouvait évaluer le coefficient de mortalité à 20 ou 25 morts par mètre carré tous les jours. Cette mortalité continua tout le mois de mai et la bande ne dépassa jamais le kilomètre 57,3. Le nombre des Acridiens qui la composaient diminuait de plus en plus, et le 29 mai, la tache avait littéralement fondu sur place, et pouvait être considérée comme anéantie.

Or, pendant ce temps, une bande témoin, évoluant au sud de la route, n'avait présenté aucune mortalité et s'était avancée de 4 kilomètres.

b) *Au moment de la dernière mue*, alors que les criquets prenaient leurs ailes, nous avons fait une deuxième expérience en pulvérisant 19 litres de bouillon, sur deux taches très voisines l'une de l'autre, le 8 et le 11 mai. Les deux taches réunies couvraient une quinzaine d'hectares et étaient éloignées de 4 ou 5 kilomètres du lieu de la première expérience.

Le même pourcentage de mortalité fut observé au bout de trois jours, et le même état morbide les immobilisa jusqu'au 19 mai, à 100 mètres à peine d'un champ d'orge superbe. Puis les sauterelles entrèrent brusquement dans le champ, au moment où elles commençaient à se servir de leurs ailes. D'autres bandes laissées indemnes vinrent malheureusement se mêler à elles le 22, pour un commencement de concentration locale. Cette adjonction de sauterelles saines rendit dès lors très difficile l'appréciation du pourcentage de mortalité. Nous constatâmes toutefois, tous les jours, de nombreux morts sur toute l'étendue de ce champ d'orge. Le 24, toutes les sauterelles qui étaient ainsi concentrées prirent leur vol dans la direction de Bou-Noual, vers le Nord-Est, mais une bande très nombreuse resta sur place.

Or l'importance de cette bande fortement infectée et qui fut décimée par l'épizootie, régulièrement, jusqu'au 24 juin, était à peu près la même que celle de la bande constituée par les survivants des deux taches pulvérisées le 8 et le 11 mai. On peut supposer que les sauterelles infectées à cette date sont restées dans le champ d'orge et que bien peu ont dû partir avec

le grand vol; à la fin de juin, ces survivantes avaient elles-mêmes presque toutes disparu.

Pendant ce temps, les bandes laissées indemnes avaient gagné Bou-Noual et s'étaient éloignées de 14 kilomètres.

c) La troisième expérience de pulvérisation fut faite le 6 juin, *sur un vol de Sauterelles en pleine force, s'accouplant* déjà depuis une quinzaine de jours et s'étant abattues au nord de la route de Frenda à Mascara, vers le kilomètre 72, au lieu dit « les trois marabouts ». Ces sauterelles provenaient de la tache importante de Bou-Noual, et couvraient une superficie totale d'une centaine d'hectares. Aucune de celles que nous avons examinées avant la pulvérisation ne présentait la goutte fécale caractéristique de l'épizootie provoquée par le *Coccobacillus acridiorum.*

Douze litres de bouillon furent pulvérisés sur un champ de blé d'une dizaine d'hectares, contenant une bande très dense de sauterelles, assez isolée du reste du vol.

Le lendemain, ces sauterelles étaient parties et pendant quelques jours, il nous fut impossible de les retrouver parmi les autres. Mais, le 10 juin, nous pouvions déjà recueillir à 1.500 mètres du lieu de pulvérisation, des mortes et des mourantes avec la goutte fécale caractéristique et dont l'infection était vérifiée au microscope. A partir de ce jour, d'autres foyers apparurent, de plus en plus éloignés du lieu de contamination primitif, et signalés spontanément par les indigènes eux-mêmes.

Le 18 juin, c'est-à-dire douze jours après la pulvérisation en un point unique, on trouvait de nombreux petits foyers disséminés sur une superficie d'une centaine d'hectares jusqu'à 13 kilomètres du lieu primitif, et dans ces foyers les sauterelles volaient mal.

Malheureusement, il fut impossible d'apprécier la destinée de la première bande infectée, qui s'était mélangée intimement à toutes les autres sur une très grande étendue.

Après les pontes, vers le 25 juin, les sauterelles commencèrent leur dispersion par grands vols s'éloignant souvent de 40 kilomètres, et il devint impossible de suivre les foyers trop disséminés et qui n'avaient pas eu le temps de devenir importants.

d) Une expérience complémentaire pour étudier la *propagation naturelle de l'épizootie* a été faite le 12 mai, dans une bande laissée indemne.

100 criquets, prélevés dans la partie la plus infectée d'une tache en expérience, furent transportés, dans un sac en toile dont les parois étaient maintenues écartées par des bâtons disposés en croix, au milieu de criquets indemnes éloignés de 2 kilomètres des autres taches.

En sortant du sac, ouvert près d'un buisson repéré, les criquets recommencèrent à sauter, montrant qu'ils avaient peu souffert du transport.

Trois jours après, on put constater des morts et des mourants en nombre relativement faible, mais certainement plus grand que celui des criquets transportés. Peu à peu, la mortalité s'étendit à quelques centaines de mètres du buisson repéré, et la tache jusque-là vivace et indemne présenta de nombreux retardataires, des morts et des paresseux. Malheureusement, l'expérience avait été faite une dizaine de jours avant l'envol, et il restait trop peu de temps pour que l'extension prît une importance suffisante et de nombreuses sauterelles purent s'envoler au moment du départ en masse.

Il resta, dix-sept jours après le départ des valides, une bande clairsemée de malades qui présentaient la goutte caractéristique.

L'expérience a donc montré la propagation réelle, quoique lente, de criquet à criquet.

III

RÉSULTATS

1° *Pathologie de l'épizootie.* — Le premier symptôme qui attire l'attention sur les malades est une diminution de l'agilité. On peut les attraper facilement avec la main. Ils présentent alors généralement, quand on presse leur abdomen, une goutte fécale caractéristique, dont la couleur va d'un jaune clair légèrement louche au noir d'encre sirupeux comme du jus de pruneaux.

Au lieu de marcher à petits coups, les pattes repliées, ils rampent les pattes postérieures allongées, et la paire postérieure finit par être agitée de tremblements convulsifs.

C'est à cette période que les criquets sont le plus facilement capturés et détruits par leurs ennemis les Oiseaux, les Mammifères et même les Fourmis. La mort survient enfin, le criquet étant sur le flanc.

C'est dans cette position que l'on retrouve les cadavres, dans les bandes contaminées. Mais ces cadavres ne restent pas longtemps sur place, et l'évaluation du coefficient de mortalité est très difficile. Les restes sont rapidement desséchés, et ceux qui ne sont pas désorganisés complètement en quelques heures par les Fourmis, ou dévorés par les Oiseaux et les Acridiens eux-mêmes, sont vite emportés par le vent et réduits en poussière.

Quand l'épizootie suit régulièrement sa marche dans une tache d'Acridiens, cette tache semble *fondre* sans qu'on puisse voir des amas de cadavres proportionnels au nombre des morts. L'effet sur l'instinct et les facultés de reproduction semble être nul, et nous n'avons pas pu constater de castration parasitaire : les pontes ont été abondantes même dans les lieux où on trouvait des malades, et les mourantes seules n'ont pas pondu.

2° *Mode de propagation.* — Le Coccobacille de d'Hérelle se trouve constamment dans les déjections liquides des Acridiens atteints par l'épizootie. Cette diarrhée noirâtre souille les feuilles et les débris de végétaux que le Stauronote laisse derrière lui et que dévoreront ceux qui viendront tout de suite après. C'est l'ingestion de ces pâtures souillées fraîchement qui propage l'épizootie, et qui détermine la dispersion du virus.

Dans les cultures ou dans les plaines à végétation assez abondante, ces risques de propagation sont donc plus élevés que dans les zones désertiques. Nous avons même pu observer une sorte de stérilisation dans une bande de Stauronotes qui avait séjourné quelque temps dans des collines pierreuses et sèches. Cette bande, infectée, il est vrai, très partiellement par un contact de quelques jours avec une bande malade, laissa le long de sa route des porteurs de germes de moins en

moins nombreux jusqu'au moment où il fut impossible d'en trouver un seul; le fait ne peut pas être expliqué par une immunité acquise, car lorsque cette bande revint dans des régions cultivées, elle subit une pulvérisation qui détermina chez elle les symptômes ordinaires de l'épizootie. Mais nous avons remarqué, lors de son passage à travers les régions arides, que les malades mouraient isolés, et leurs déjections aussitôt rôties par la sécheresse ne risquaient guère de contaminer les Acridiens indemnes.

Il peut donc exister, en Algérie, pour le Stauronote marocain, des conditions qui peuvent gêner, à certains moments, la propagation de l'épizootie.

3° *Conditions climatériques.* — Nous avons recherché la sensibilité du Stauronote aux trois phases principales de son existence, quand il est jeune criquet, quand il prend ses ailes, quand il est adulte. Le meilleur moment est vers la fin du premier mois de son évolution. Trop jeune, il semble résister d'une façon particulière; d'autre part, plus on tarde et moins l'épizootie aura le temps de se propager avant le départ des sauterelles et le commencement des pontes. C'est à cette époque aussi que la maladie a le plus de chance de s'étendre, puisque les criquets vivent en masses serrées et se déplacent lentement.

A la fin de la dernière mue, l'effet du virus se fait aussi sentir, mais les Acridiens semblent avoir alors un renouveau de vigueur en vue de l'accouplement et de la ponte. Nous en avons vu de très vigoureuses accouplées et présentant la goutte fécale caractéristique.

Enfin, lorsqu'elles ont pris leur vol, l'épizootie a moins de prise sur elles à cause de leur genre nouveau d'existence. Elles ne sont plus en masses serrées, elles se déplacent souvent et loin, et les risques de contamination sont diminués d'autant. Par contre l'aire de dispersion est beaucoup plus étendue dans les épizooties provoquées à cette époque : alors que dans les bandes de criquets la contagion ne s'étend guère qu'à quelques centaines de mètres du lieu de pulvérisation, dans les bandes en plein vol, elle peut atteindre une centaine d'hectares au bout de quelques jours.

On peut donc tenter de créer une épizootie pendant toute

l'évolution du Stauronote, mais le moment favorable est celui où le Stauronote est encore criquet, deux ou trois semaines après sa naissance.

4° *Conditions météorologiques.* — Les modifications atmosphériques qui se produisent aussitôt après la pulvérisation semblent agir peu sur les effets du virus. La pulvérisation n'est en effet qu'un « ensemencement » du Coccobacille dans l'organisme du criquet, où sa virulence utile doit s'exalter au cours des passages naturels. Les Acridiens s'infectant tout de suite en dévorant les pâtures sur lesquelles on vient de répandre le bouillon, on peut s'expliquer que ni la pluie, ni la sécheresse survenant à ce moment ne puissent influencer sensiblement les résultats.

Le temps humide et chaud est évidemment le meilleur parce que le bouillon reste bien sur les feuilles et que les criquets montrent plus d'activité.

Une fois l'épizootie bien établie dans une tache, les variations atmosphériques semblent agir d'une façon à peu près nulle sur sa propagation.

5° *Immunité acquise.* — Nous n'avons pas constaté que les expériences de l'année dernière aient développé chez des Stauronotes une immunité vis-à-vis du *Coccobacillus acridiorum.* Néanmoins, cette courte expérience de deux années ne nous permet pas encore d'écarter cette hypothèse. Il est à craindre qu'au bout de quelques années les générations d'Acridiens ayant pu guérir de l'épizootie deviennent réfractaires au Coccobacille. Les campagnes prochaines pourront seules répondre à cette question.

6° *Observations de bandes indemnes témoins.* — Nous avons, à chaque expérience, considéré en même temps une bande témoin, vierge de toute contamination. De plus nous avons étudié une autre région infestée par les Stauronotes à une trentaine de kilomètres de nos expériences, sur la commune de Saïda. Dans cette zone manifestement indemne nous n'avons trouvé aucun cadavre sur toute l'étendue de la tache Sur 500 criquets ramassés au hasard nous n'avons obtenu que chez deux seulement une goutte fécale d'un jaune légèrement louche dans laquelle nous n'avons pas trouvé le *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. Enfin, aucun ne présentait cet état morbide

spécial que nous avons signalé dans chacune de nos expériences.

Les caractères que nous avons pu constater dans les taches en expérience étaient donc bien la conséquence de l'épizootie que nous y avions provoquée.

CONCLUSIONS

Les expériences de 1913 et de 1914 montrent que l'on peut, en pulvérisant des cultures de *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle sur une tache de Stauronotes marocains, provoquer une épizootie durable parmi ces Acridiens. Cette épizootie se propage *lentement* de criquet à criquet en s'éloignant de plus en plus du foyer primitif, mais elle peut sévir dans les bandes infectées *jusqu'à la fin de leur évolution.*

Elle se manifeste d'abord par un état morbide qui amène une diminution de l'agilité du criquet.

Enfin des morts apparaissent au bout de quelques jours dans les bandes infectées. Cette mortalité est plus remarquable par sa durée et sa constance que par son importance journalière, mais il est arrivé qu'une tache de deux ou trois hectares a été décimée en trois semaines.

Comment donc utiliser les propriétés du *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle dans une application de la méthode biologique à la destruction des Stauronotes, en Algérie ?

1° Il faut considérer cette méthode de destruction comme un procédé de longue haleine qui peut donner régulièrement des résultats partiels pendant des campagnes successives.

Ce n'est pas un moyen immédiat de préservation des récoltes, et une bande que l'on pulvérise sur la lisière d'un champ n'en dévorera pas moins toutes les cultures. Les sauterelles ne seront détruites que peu à peu, mais cette destruction étant continue, on peut espérer que bien peu de survivantes pourront pondre cette année-là. L'année suivante, la campagne devra reprendre énergiquement, et les chances de succès seront d'autant plus grandes que le nombre initial des Acridiens à détruire sera plus diminué. Ainsi en plusieurs campagnes, on peut espérer arriver à réduire d'une façon sensible les foyers d'où partent les inva-

sions. On doit pourtant émettre une réserve, basée sur la longueur de cette action : on peut craindre qu'une immunité de certaines races de Stauronote vis-à-vis du *Coccobacillus acridiorum* ne s'établisse au cours de cette épizootie prolongée ;

2° Ce procédé nécessitant une main-d'œuvre minime et ne demandant aucune surveillance, on pourra l'utiliser dans les régions éloignées des centres, où l'installation de chantiers et surtout leur fonctionnement prolongé sont rendus presque impossibles par les difficultés de ravitaillement. Les taches de criquets éclos dans ces régions désertes arrivent généralement à leur complet développement sans qu'on puisse les détruire d'une façon pratique, et deviennent des foyers qui, par leur multiplication, annihilent les efforts mis en œuvre dans d'autres régions. Une infection méthodique de ces bandes, qui sera toujours possible à peu de frais, atténuera sans doute ce danger.

3° En provoquant chez les Acridiens un état morbide qui les rend paresseux, la méthode biologique sera un excellent adjuvant des mesures mécaniques qui seront employées. Dans les taches immobilisées ou retardées par l'infection coccobacillaire, le travail des chantiers utilisant les moyens mécaniques sera facilité par le fait qu'il pourra être exécuté toujours au même endroit et avec le même matériel. Les cultures voisines pourront être protégées facilement et le rayon de destruction se trouvera diminué notablement.

Enfin, on peut espérer que la méthode biologique permettra de continuer les moyens mécaniques au moment où ceux-ci deviennent impraticables, c'est-à-dire lorsque les sauterelles prennent leur vol. Les expériences n'ont pas encore été faites sur une assez grande échelle pour que l'on puisse se prononcer sur ce point, mais, d'après de nombreuses observations, nous sommes en droit de compter sur un résultat favorable. Il est probable que lorsqu'une région aura été infectée systématiquement, il y aura une grande proportion de sauterelles ailées, affaiblies par la maladie, qui pourront être détruites par les procédés ordinaires.

Dans ce cas, la campagne de destruction serait prolongée de plus d'un mois, c'est-à-dire de la moitié de sa durée actuelle. On pourrait même lutter contre les Stauronotes au moment de la ponte.

En résumé, il y a un réel intérêt économique à ajouter en Algérie l'infection par les cultures de *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle aux moyens de lutte déjà employés contre les Stauronotes marocains.

Ce procédé biologique n'est pas destiné à remplacer les moyens mécaniques classiques qui peuvent seuls être efficaces quand les Acridiens abordent les récoltes.

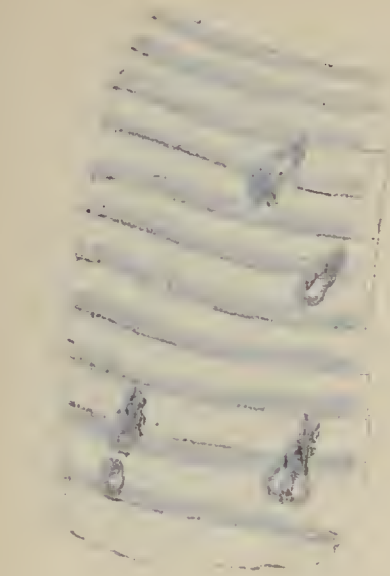
Dans les régions éloignées des lieux habités, où les moyens mécaniques sont peu praticables, les pulvérisations préventives sur les taches de jeunes criquets seront peu coûteuses et pourront diminuer l'étendue des invasions.

Enfin, partout où les moyens mécaniques seront employés, la méthode biologique constituera un utile adjuvant.

En terminant cette note, nous tenons à remercier vivement M. d'Hérelle de ses bons avis, à assurer de notre gratitude notre collaborateur M. l'administrateur-adjoint A. Ivara, et à présenter nos remerciements à M. l'administrateur Alaux, à MM. Porthé, du Syndicat de défense contre les Sauterelles de Frenda, et à M. l'administrateur-adjoint Galy.

Le Gérant : G. Masson.

Paris — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.


Fig. 1.

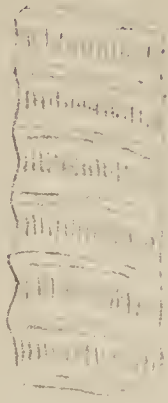

Fig. 2.



Fig. 3.

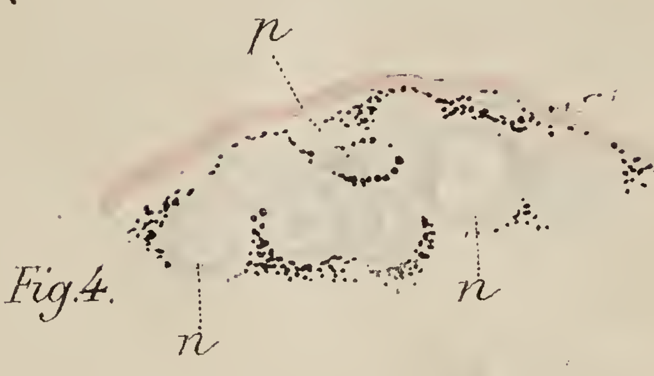


Fig. 4.


Fig. 5.


Fig. 6.

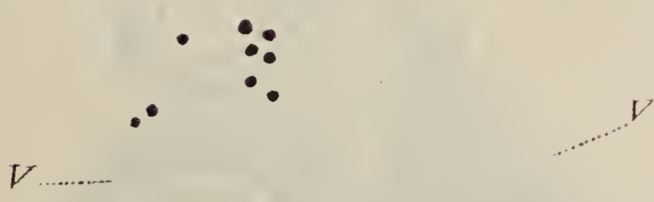




Fig. 7.

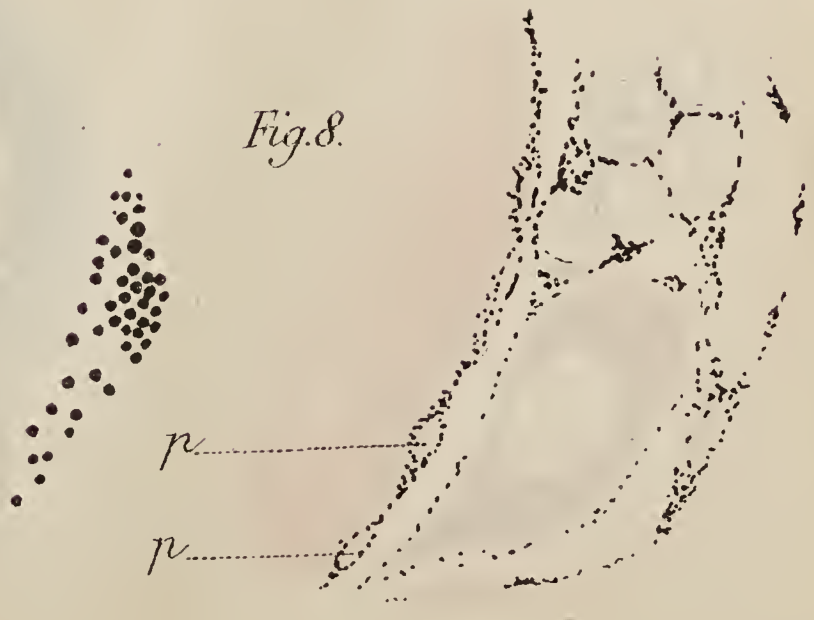


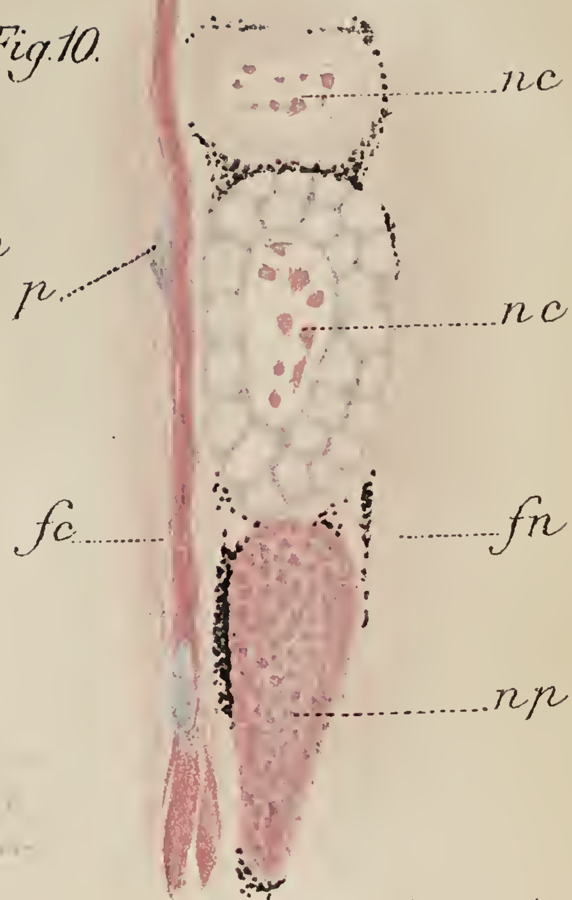
Fig. 8.

El. Metchnikoff del. C. Constantin lith.

Fig. 9.



Fig.10.





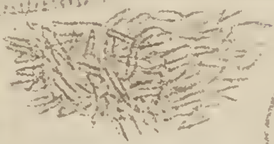






Fig. 11.

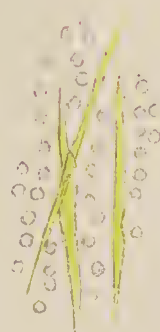


Fig. 12.

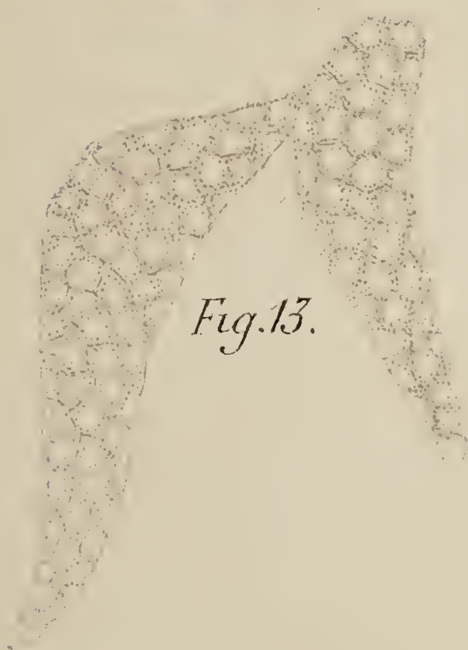


Fig. 13.



Fig. 14.



Fig. 15.

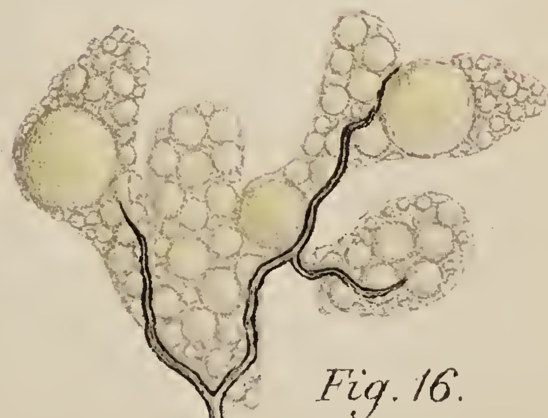


Fig. 16.

El. Metchnikoff del. C. Constantin lith.

29e ANNÉE NOVEMBRE 1915 N° 11

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. METCHNIKOFF.

REMARKS ON THE NATURE AND SIGNIFICANCE OF THE SO-CALLED " INFECTIVE GRANULES " OF PROTOZOA

by E. A. MINCHIN (1).

During the past few years several investigators have observed the extrusion of minute corpuscles from the bodies of various Protozoa parasitic in the blood of Vertebrates. The first observation of this kind appears to have been made by Major W. B. Fry in 1911, who communicated his results to the Royal Society in June 1911. He regarded these socalled granules as true developmental stages of the parasite which, after extrusion from the body of the trypanosome, were capable of developing into the adult form again. Similar observations were made on the spirochætes of fowls by Dr. Andrew Balfour, in whose laboratory at Khartoum the observation of Fry were made, and who proposed for these bodies the term « infective granules ».

At the time when the discoveries of Fry and Balfour were published, I was engaged in writing my text-book on the Pro-

(1) E. A. Minchin, professeur de protozoologie à l'Université de Londres, membre de la Société Royale, a succombé en octobre dernier à une longue maladie. La rédaction des *Annales* s'associe aux regrets causés par la mort prématurée de cet éminent zoologiste.

tozoa, which went to press early in 1912 and was published in September of that year. In that work I wrote (p. 306) : — « That a trypanosome or any other living cell might excrete grains which, when set free, could exhibit movements due to molecular or other causes, is highly probable; but that such grains represent a stage in the life-history of a trypanosome is far from being so. » At the time I wrote these words the only figure of the « infective granules » that had been published, so far as I am aware, was the diagrammatic and scarcely convincing figure given by Fry, and in my criticism I was misled by assuming that the word « granule » was used by Balfour and Fry in the ordinary cytological sense of the word. Subsequently the formation of « infective granules » in Hæmogregarines was described in detail by Dr. Herbert Henry in 1913, and in the same year a full account of these bodies was published by Fry and Ranken. Both these memoirs were accompanied by numerous illustrations, from which (and specially from these given by Fry and Ranken) it seems to me quite clear that the term « granule » applied to these bodies is a complete misnomer; they are not cell-granules in the ordinary sense of the term, but endogenous buds, the formation of which begins by a concentration of chromidia, and each bud, when complete, has the morphological and cytological value of a true cell, very minute in size and reduced almost entirely to its chromatin-elements; the cytoplasm so small in amount as to be practically invisible, or perhaps absent altogether.

In order to establish this interpretation, I may first draw attention to the many known examples of endogenous budding in other Protozoa, and specially in the Amœbæa. There are, in fact, so many examples of this process of reproduction known to occur in Amœbæa that in a short note it is impossible to refer to them all; I must content myself here by mentioning a few typical instances, such as the life-history of *Arcella* (summarized in my book, pp. 177-181 and fig. 80) and that of *Amœba minuta*, recently published by Popoff, and I will deal presently in more detail with the very typical instance described by Liston and Martin. In Flagellata, instances of this method of reproduction are less common, but typical examples

are seen in the life histories of the Mastigamœbæ so fully described by Goldschmidt (see also pp. 265-267 and fig. 112 of my book).

I select for special notice the reproduction of the amœba described in detail by Liston and Martin, not only because it offers a very typical example of the process of internal bud-formation, but because the observations were made in my labo-



Fig. 1. — *Formation of endogenous chromidial buds in an amœba.*

A, specimen with one large and one small bud; B, smaller specimen with one bud; C, a small specimen with one full-sized bud and two small ones; D, a specimen with a full-sized bud in process of liberation from the parent; E, a bud recently liberated, with its nucleus not fully formed; F, a small amœba containing a large bud. All the amœbæ contain numerous chromidia and ingested bacteria scattered in their cytoplasm; N, principal nucleus, which takes no share in the bud-formation; *b*, buds in various stages of formation. After Liston and Martin.

ratory and I am able to vouch for their accuracy. In the living condition the amœba was seen sometimes to divide as a whole into two by binary fission, after apparent disappearance of the nucleus. More frequently the amœba, while moving about and feeding actively, was seen to extrude tiny buds from its cytoplasm, and these buds moved off as small amœbulæ which grew to the size of their parent and produced other buds in their turn. By both these methods of reproduction, but especially by

formation and extrusion of buds the amœbæ multiplied rapidly in the cultures.

In preserved specimens the body of the amœba was seen to contain a conspicuous principal nucleus (N, fig. 1), visible in the living condition, and very numerous chromidial grains in the cytoplasm. In the process of binary fission, the apparent disappearance of the principal nucleus was due to its dividing by mitosis, after which the cytoplasmic body divided also. In the process of bud-formation the principal nucleus took no part; the process began by a small portion of the cytoplasm, containing chromidia, becoming surrounded by a clear space with fluid contents and thus cut off from the rest of the body (fig. 1, A, *b*). The corpuscle thus defined grew in size, its chromidial grains increased in number, and some of them became clumped together at one spot (fig. 1, F, *b*). The entire corpuscle was extruded finally from the body of the amœba (fig. 1, C, D, E) as an amœbula wich contained a nucleus formed from the clump of chromidia. In some cases the nucleus was completely formed before the bud was extruded (fig. 1, D, *b*); in other cases the bud might be set free with its nucleus scarcely advanced beyond the condition of a clump of chromidia (fig. 1, E, N). Several of these endogenous buds could be observed frequently in process of formation in one and the same amœba.

If we now compare the process described by Fry and Ranken in trypanosomes with that described in amœbæ by Liston and Martin, I think no one can fail to be struck by their essential similarity. The bud-formation in trypanosomes begins with extrusion of small chromatin-grains from the trophonucleus (fig. 2, A, chr.), grains which are proved, both by their origin and destiny, to be true chromidia. The chromidial masses can be seen in many cases to be cut off from the cytoplasm of the parent by a clear space; they travel to the surface of the body and are cast off from it as a free bud, which grows in size and develops into a trypanosome (fig. 2, E-L). In the process of development the bud grows in size by increase of the chromatin-grains (E) and formation of a cytoplasmic body (F) while at the same time the differentiation of the chromatin-elements into trophonucleus and kinetonucleus becomes appa-

rent. The bud continues to grow in size and at such a stage as that figured in fig. 2, H, it only differs from the newly-extruded amœba-bud (fig. 1, E) in possessing a kinetonucleus in addition to the principal nucleus. In later stages a flagellum grows out from the vicinity of the kinetonucleus and the small flagellate may divide, but grows finally into a trypanosome.

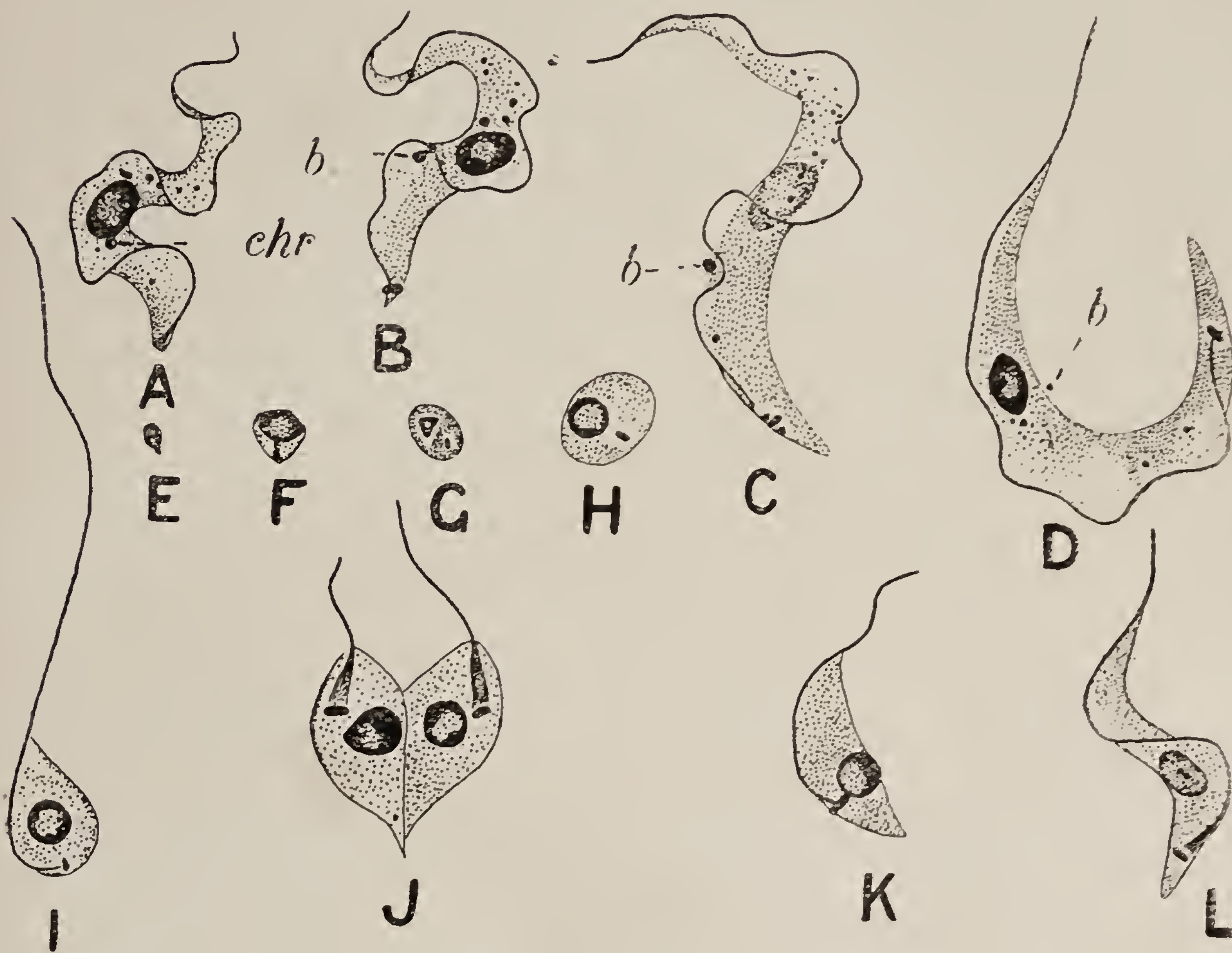


Fig. 2. — *Formation of endogenous buds (« infective granules »), in* Trypanosoma rhodesiense.

A, a trypanosome containing chromidial grains, one of which (*chr.*) is seen coming off from the nucleus; B, a trypanosome containing chromidial grains, two of which are coming off from the surface of the body as a bud (*b*); C and D, trypanosomes with chromidial grains and buds (*b*) in process of liberation, or liberated, from the body; E-L, development of the buds after liberation from the parent; E-H, growth of the bud with formation of the kinetonucleus; I shows the flagellum formed; J, division of small crithidial forms; K and L, small trypanosomes; K, still almost crithidial in structure. After Fry and Ranken.

From the comparison of the budding in the two cases, it is seen that the bud produced by the trypanosome differs only from that produced by the amœba : 1° in being very minute and containing very few chromidia, perhaps but a single grain (which, however, is of larger size in most cases than the grains

in the cytoplasm, and may be produced by a clumping and fusion of smaller chromidial granules); 2° in the apparent absence of cytoplasm. The second of these two features is by no means uncommon in particular stages of some Protozoa, especially when stained by the Romanowsky stain, which, as I have pointed out elsewhere (1909), tends to make the chromatin-elements appear larger than they really are. since the red-staining substance of the combination deposits round the parts witch it selects as well as in them. In the microgametes of *Coccidium*, for example, the cytoplasmic substance appears to be represented only by the flagella. and in the microgametes of the malarial parasites, when stained by the Romanowsky method, no cytoplasm can be discerned. I feel justified, therefoe, in asserting that the bud-formation in trypanosomes, as described by Fry and Ranken, differs only in degree, and not in kind, from that already well-known to take place in many amœbæ and other Protozoa; as compared with the process as described by Liston and Martin, the buds of the trypanosomes give the impression of being set free in an earlier and more incomplete stage of differentiation than those of amœbæ.

It is not necessary for me to deal in detail with the « granule-shedding » described by Henry in *Hæmogregarina simondi*, since this author has fully recognized the chromidial nature of these formations, and the opinion I have expressed above with regard to trypanosomes applies also, *mutatis mutandis*, to the case described by Henry. I may content myself by referring briefly to the suggestions put forward by Henry to the effect that the « granules » are to be interpreted as recapitulating an older phylogenetic condition in the evolution of the Protista.

I have always been of the opinion that the condition in which the chromatin-elements of the Protist body are in the form of scattered chromidial granules was antecedent phylogenetically to the condition in which the chromatin-grains are concentrated and organized into a definite nucleus. I imagine to myself the more remote ancestor of the Protozaa as a form with well-developed cytoplasm containing scattered chromidial grains, and that from such a form the definitely cellular cha-

racter of the body seen in Protozoa (and in unicellular plants) arose by formation of a definite cell-nucleus from the whole or a part of the scattered chromidial grains. Consequently the chromidial buds, or any other stages of Protozoa in which the chromatin is found only in the form of scattered chromidial grains, might very well be regarded as of phylogenetic and recapitulative significance. I doubt, however, whether the minute buds of trypanosomes and hæmogregarines can be interpreted as recapitulating a still older phylogenetic stage, similar to that perhaps represented by the Chlamydozoa at the present day, a stage in which the body consists of a single chromatin-grain. It seems to me much more likely that the minute buds of trypanosomes and hæmogregarines have arisen by a secondary reduction in size and structure of chromidial buds such as those formed in amœbæ and other Protozoa, probably as an adaptation to parasitism in blood; and that consequently their minute size and simple structure must not be regarded as characters which are capable of a phylogenetic interpretation.

I would like to point out, finally, that the discoveries of Fry and Ranken and of Henry constitute, in my opinion, a very important advance in our knowledge. They show that reproduction by formation of endogenous chromidial buds occurs in the Hæmoflagellates and Hæmosporidia, groups in which it had not been suspected hitherto to take place (1). It may well be, therefore, that this method of reproduction is of much wider occurrence among Protozoa than has been supposed up to the present, and that in many forms, such as *Lamblia*, for example, where division is not often found, it may be on method of the reproduction of the organism. Light is also thrown by it on the nature of the « chromatoid grains » of trypanosomes, which have been asserted to be, in most cases, grains of the nature of volutin; but the proof that they can give rise to « secondary » nuclei puts it beyond all doubt that

(1) I do not refer here specially to the observations of Balfour on spirochætes, because I am unable to regard these organisms as true Protozoa, and I think it possible that the « infective granules » or « coccoïd bodies » of spirochætes may require a different cytological (and phylogenetic) interpretation from those of trypanosomes, in spite of their similarity in appearance and function.

in some cases at least, they are true chromidia. I may mention here that I drew attention to extrusion of grains from the nucleus in my memoir (1909, p. 795 and p. 802) on *Trypanosoma lewisi*.

Summary and Conclusions. — This brief note does not a bring forward any facts hitherto unknown, but attempts to compare and coordinate certain known facts with a view to demonstrate their essential similarity and homology. The conclusion reached is that the phrase « infective granule » is misleading and erroneous, since the bodies so termed are true endogenous chromidial buds. Consequently the term « granule-formation » should be replaced by « endogenous bud-formation » and the term « granule shedding » by extrusion of buds or some similar phrase.

Lister Institute, April, 1914.

REFERENCES

BALFOUR, A. (1911). — The Infective Granule in certain Protozoal Infections, as illustrated by the Spirochætosis of Sudanese Fowls. *British Medical Journal*, 1911 (1), p. 752 (April 1st).

FRY, W. B. (1911). — A Preliminary Note on the Extrusion of Granules by Trypanosomes. *Proc. Roy. Soc.* (B) LXXXIV, p. 79, 80, 1 text-fig.

FRY, W. B. and RANKEN, H. S. (1913). — Further Researches on the Extrusion of Granules by Trypanosomes and their Further Development. *Proc. Roy. Soc.* (B) LXXXVI, p. 377-393, pls. IX-XI.

HENRY, H. (1913). — The Granule Shedding of *Hæmogregarina simondi*. A consideration of the Infective Granule in the Life-history of Protist Organisms. *Journ. Pathol. Bacteriol.*, XVIII, p. 240-258, pls. XX-XXII.

LISTON, W. G. and MARTIN, C. H. (1911). — Contributions to the Study of Pathogenic Amœbæ from Bombay. *Quart. Journ. Micr. Sci.*, LVII, p. 107-128, pls. XVI-XVIII.

MINCHIN, E. A. (1909). — The Structure of *Tryponosoma lewisi* in Relation to Microscopical Technique. *Quart. Journ. Micr. Sci.*, LIII, p. 755-808, pls. XXI-XXIII.

— (1912). — An Introduction to the Study of the Protozoa. London (Edward Arnold).

POPOFF, M. (1911). — Ueber den Entwicklungscyclus von *Amœba minuta*. *Arch. Protistenkunde*, XXII, p. 197-223, pls. XIII, XIV, 7 text-fig.

LE ROLE ANTIPUTRIDE DE LA BILE

par H. ROGER.

Les bactéries de l'intestin, s'attaquant aux débris alimentaires, élaborent des substances dont le rôle pathogène est indiscutable. Bouchard avait insisté sur l'importance des putréfactions intestinales. Metchnikoff a repris et élargi la question, il a montré que les troubles fonctionnels les plus variés, les lésions viscérales les plus diverses, les dégénérescences cellulaires les plus profondes, que certaines manifestations de la décrépitude sénile doivent être rattachés à l'action des poisons putrides.

L'importance des putréfactions intestinales donne un intérêt considérable à la recherche des procédés que l'organisme met en œuvre pour en restreindre le développement et en atténuer les effets.

Depuis longtemps, physiologistes et médecins attribuent à la bile un pouvoir antiputride. Quand ce liquide n'est plus déversé dans l'intestin, les putréfactions augmentent : les matières exhalent une odeur forte et nauséabonde; des gaz fétides sont expulsés par l'anus : l'haleine acquiert une senteur désagréable.

Ces constatations bien simples ont conduit à supposer que dans les conditions normales la bile entrave la pullulation des microbes.

L'expérience ne confirme pas cette déduction. La bile, exception faite du pneumocoque, ne trouble pas la végétation des bactéries, et, dans bien des cas, la favorise.

Il y a entre ces deux constatations une contradiction flagrante, un véritable paradoxe, dont il m'a semblé utile de poursuivre l'étude.

Ayant semé des cultures polymicrobiennes d'origine intestinale, comparativement dans du bouillon pur et dans du

bouillon additionné de bile, j'ai constaté que la pullulation des microbes est aussi abondante dans les deux milieux; mais la flore est loin d'être identique. La bile favorise le développement du colibacille au détriment des anaérobies, c'est ainsi que le *Bacillus perfringens*, le *Bacillus butyricus*, quand ils sont en culture pure, ne sont nullement gênés par la bile, mais dans une culture mixte avec le *Bacillus coli*, ils sont étouffés par leur associé.

En favorisant la pullulation du colibacille aux dépens des anaérobies, qui sont les principaux agents des putréfactions, la bile exerce indirectement une action antiputride. En modifiant la flore, elle modifie les fermentations. Mais son rôle ne se borne pas à aider la concurrence vitale de certains microbes, elle exerce sur ceux qui se développent une action fort curieuse : elle trouble leur fonctionnement et diminue leur pouvoir fermentatif. C'est ce qu'on démontre facilement en étudiant les transformations des hydrates de carbone.

Dans une première série de recherches, j'ai utilisé de l'eau peptonée ou du bouillon contenant de l'amidon et additionné de carbonate de calcium, ce sel étant indispensable pour neutraliser les acides de fermentation dont l'accumulation ne tarderait pas à arrêter la végétation des microbes. Les milieux ainsi préparés sont distribués dans des tubes, dont les uns sont gardés comme témoins, dont les autres sont additionnés d'une quantité variable de bile. Tous sont ensemencés avec des cultures polymicrobiennes d'origine intestinale. Chaque jour on prélève une petite quantité de ces divers liquides et, par le réactif iodo-ioduré, on suit la marche du processus. La couleur primitivement bleue devient, à mesure que l'amidon est remplacé par les dextrines, violette, puis lilas et rose ; quand il ne reste plus que des achrodextrines, du sucre et des acides de fermentation, le liquide est simplement coloré en jaune par le réactif.

On constate ainsi que, dans les tubes témoins, l'hydrolyse est achevée en trois ou quatre jours; dans les tubes contenant de 2 à 15 p. 100 de bile, on trouve encore, au bout de quinze jours, des quantités appréciables de dextrine et même d'amidon.

Ce qui complique le problème, c'est qu'en augmentant la teneur en bile, on obtient un effet diamétralement opposé.

Quand la proportion atteint de 33 à 66 p. 100, l'attaque de l'amidon est plus énergique et plus rapide que dans les tubes témoins.

On peut remplacer la bile totale par des solutions de sels biliaires : les résultats sont analogues; les fortes doses favorisent la fermentation, les doses moyennes l'entravent. Mêmes résultats en utilisant au lieu d'amidon du glycogène, c'est-à-dire des décoctions de foie de lapin additionnées de peptone, ou en employant des solutions de glycose. Avec ce sucre, les recherches gagnent en précision, des dosages quotidiens permettant de suivre exactement la marche du processus.

Les résultats obtenus avec les cultures polymicrobiennes, s'ils ont l'avantage de nous renseigner sur ce qui doit se passer dans l'intestin, ont l'inconvénient d'être assez complexes; il faut les compléter par une étude analytique faite en choisissant certains microbes intestinaux et en recherchant les variations de leur pouvoir fermentatif.

Il était tout indiqué de commencer par le microbe le plus répandu, le colibacille, qui se prête d'autant mieux à l'expérience qu'il attaque fortement le glycose. Le milieu utilisé contenait 1,25 p. 100 de ce sucre; après vingt-quatre heures de culture, on trouvait les chiffres suivants :

Tubes témoins	0,33
Tubes contenant 5 à 10 p. 100 de bile	0,6 à 0,62
Tubes contenant 18 p. 100 de bile	1,08
Tubes contenant 33 p. 100 de bile	0,39

Ainsi les doses moyennes empêchent presque complètement la fermentation du glycose; les doses élevées la diminuent légèrement.

Pour donner un caractère plus général à mes résultats, j'ai étudié l'action du *Bacillus mesentericus vulgatus* sur l'amidon. Ce microbe est un hôte constant du tube digestif, qui attaque si énergiquement les matières amylacées que, dans les tubes témoins, le réactif iodo-ioduré ne décèle, au bout de quarante-huit heures, que des traces de dextrine; après quatre jours, il ne provoque plus de coloration appréciable. L'adjonction de la bile, quelle qu'en soit la proportion, entrave notablement la fermentation. Après douze ou quinze jours, le processus n'est pas terminé; le réactif iodo-ioduré provoque encore une belle

coloration violette. C'est du moins ce qu'on observe avec les doses moyennes oscillant entre 15 et 20 p. 100, elles agissent mieux que les doses élevées atteignant 30 et 40 p. 100.

Le *Bacillus mesentericus vulgatus* hydrolysant l'amidon au moyen d'un ferment soluble, j'ai été conduit à rechercher l'action de la bile sur ce ferment. Les résultats ont été identiques à ceux que j'avais obtenus avec les cultures vivantes; la bile a gêné l'amylolyse.

En cultivant comparativement le *B. mesentericus* dans de l'eau peptonée amidonnée, pure ou additionnée de bile, j'ai constaté encore que la bile entrave la production du ferment microbien. Il suffit de prélever chaque jour une certaine quantité des diverses cultures et, après stérilisation par un mélange de chloroforme et d'essence de cannelle, de les faire agir sur de l'eau amidonnée. On constate ainsi que l'amylase est moins abondante dans les tubes additionnés de bile que dans les tubes témoins. La bile agit donc en entravant la production du ferment et en réduisant l'action du ferment produit.

En répétant toutes ces expériences avec des solutions de sels biliaires, j'ai obtenu des résultats identiques.

*
* *

L'étude des hydrates de carbone et des transformations qu'ils subissent est relativement simple. Mais elle est moins importante que l'étude des matières protéiques, puisque c'est aux dépens de celles-ci que se développent les poisons putrides.

J'ai continué mes recherches en me servant de cultures polymicrobiennes d'origine intestinale, que j'ai semées dans plusieurs séries de tubes contenant de l'eau peptonée. De ces tubes, les uns étaient gardés comme témoins, les autres étaient additionnés de bile.

La réaction du biuret permet de suivre la marche de la fermentation.

Après 48 heures, la quantité de peptone a considérablement diminué dans les tubes témoins; à partir du 4e jour, il n'en reste que des traces; puis le processus se ralentit et c'est seulement vers le 15e ou le 20e jour que la réaction est négative.

Dans les tubes contenant de la bile, après 48 heures de cul-

ture, les peptones sont intactes; elles n'ont pas complètement disparu après 40 et 45 jours. C'est quand la bile se trouve à la dose de 10 à 20 p. 100 que son action antifermentescible est le plus marquée. Les proportions plus élevées, tout en entravant le processus, agissent moins énergiquement.

Si l'on remplace la bile par une solution de sels biliaires, on obtient des résultats analogues; on constate également la persistance de la réaction du biuret, qui est surtout intense quand la proportion des sels biliaires oscille entre 1 et 2 p. 100. Elle est moins marquée quand la dose est plus forte, elle est encore manifeste, quoique atténuée, quand la teneur est de 0,25 à 0,1 p. 100.

On arrive à des résultats plus précis en faisant des cultures dans des milieux contenant des matières azotées et en déterminant au bout de quelques jours le résidu sec. L'intensité de la putréfaction est indiquée par la perte de poids qui représente la quantité évaporée. Si le milieu est riche en albumine, si, par exemple, il contient du blanc d'œuf, la diminution des matières solides, après 12 jours, est de 47 p. 100; sous l'influence de la bile, elle n'est que de 39. La différence est appréciable, mais légère. Au contraire, dans l'eau peptonée, les écarts sont énormes : 58 p. 100 dans le ballon témoin, 27 dans le ballon contenant de la bile. Cette dernière constatation est d'autant plus intéressante qu'à l'état normal les matières protéiques qui cheminent dans l'intestin sont à l'état de peptones.

L'étude des putréfactions que subissent les matières azotées comporte quelques déductions applicables à la pathologie. C'est à leurs dépens que les bactéries intestinales élaborent des substances toxiques. Or, l'expérience démontre que la bile est l'antidote des poisons intestinaux. Il suffit, pour s'en convaincre, de semer comparativement des microbes d'origine intestinale dans deux ballons renfermant l'un du bouillon peptoné, l'autre du bouillon peptoné additionné de 25 p. 100 de bile de bœuf. Après 3 ou 4 jours de culture, on reprend les liquides, on les filtre et on les injecte à des lapins par la voie intraveineuse. Les accidents produits par les deux liquides sont semblables; ce sont des secousses spasmodiques, puis de violentes convulsions. Mais les doses mortelles sont bien différentes. Les cultures additionnées de bile, alors même que les

injections sont poussées plus rapidement, sont de trois à sept fois moins toxiques que les cultures développées en bouillon pur.

*
* *

Les faits que je viens d'exposer permettent d'expliquer ce qu'on peut appeler le paradoxe de l'acholie intestinale.

Jusqu'ici, on ne concevait pas par quel mécanisme des fermentations intenses, accompagnées de gaz extrêmement fétides, se développent dans l'intestin, quand l'écoulement de la bile est suspendu. Pourquoi ce syndrome putride, puisque le fluide biliaire n'entrave pas le développement des bactéries?

La réponse est devenue extrêmement simple : si les putréfactions s'exagèrent, ce n'est pas parce qu'un liquide antiseptique fait défaut, c'est parce que des substances empêchant l'action des ferments microbiens, soit qu'elles en entravent la production, soit qu'elles en neutralisent les effets, cessent d'être déversées dans l'intestin.

La bile agit encore en modifiant la flore intestinale, en favorisant le développement de certaines bactéries telles que le colibacille, au détriment de certains autres, notamment des germes anaérobies, les agents les plus importants de la putréfaction et de la toxicité. Pour intéressante qu'elle soit, cette influence ne doit être placée qu'au second plan. C'est en diminuant la production et l'action des ferments microbiens, et en neutralisant les poisons intestinaux, que la bile exerce un rôle antiputride.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE CERTAINES MYCOSES DE BLESSURES DE GUERRE
ET DE LEURS TRAITEMENTS

par

le Dr E. ROUYER,
Médecin-major de 1re classe,
Chef du Service sanitaire
de la place de Belley (Ain).

J. PELLISSIER,
Ingénieur-agronome,
Professeur d'agriculture
à Belley.

I. — Note médicale.

Chargé d'un service de blessés venant directement du champ de bataille, nous avons été frappé, à plusieurs reprises, de la difficulté avec laquelle certaines plaies, se présentant sous formes d'érosions cutanées superficielles, se cicatrisent, malgré tous les soins apportés à la pratique des pansements.

Vers la mi-novembre, notre attention avait même été attirée sur un caractère assez particulier de ces plaies : tandis que leur partie centrale montrait de vrais bourgeons charnus qu'il fallait cautériser assez souvent au nitrate d'argent pour éviter une prolifération trop intense, la périphérie était couverte d'un voile blanc-grisâtre de pellicules adhérentes au tissu cellulaire sous-cutané et s'étendant chaque jour davantage vers les parties saines. La plaie prenait volontiers l'aspect d'un ulcère en voie d'extension continue. La teinture d'iode, l'eau oxygénée, voire même les vulgaires pansements à la gaze sèche stérilisée n'empêchaient nullement cette ulcération de la plaie de surface.

Obs. I. — Le soldat Cort... avait été atteint le 9 août d'un éclat d'obus qui avait pénétré assez profondément dans la fesse gauche, d'où il fut extrait vers le milieu d'octobre. Un autre éclat avait frappé la partie supérieure du bras gauche, déchirant les vêtements et provoquant une érosion superficielle de la dimension d'une pièce de 2 francs; la lésion intéressait seulement la peau et le tissu cellulaire sous-cutané. Or, tandis que la plaie de la fesse gauche se cicatrisait rapidement, après l'extraction du fragment d'obus, l'érosion du bras n'avait aucune tendance à se fermer; et, à partir du

15 novembre, elle gagnait chaque jour en étendue, au point d'atteindre à peu près les dimensions d'une pièce de 5 francs. Les antiseptiques habituels ayant échoué, nous avons eu l'idée de toucher les bords de la plaie avec un crayon de *sulfate de cuivre*, et nous avons vu l'ulcération s'arrêter, en même temps que des bourgeons charnus apparaissaient au bord de la plaie, dont la cicatrisation devenait normale.

Obs. II. — Le soldat Mich.., blessé de trois éclats d'obus aux environs de Toul, le 20 août, est porteur de trois plaies anfractueuses, l'une à la région lombaire, la seconde à la face interne de la cuisse gauche et la troisième à la face externe de cette même cuisse. La deuxième plaie est, à deux reprises différentes, le siège d'hémorragies abondantes, qui cessent définitivement après l'ablation d'un éclat de fusée d'obus et de débris vestimentaires ; sa cicatrisation s'opère ensuite rapidement.

Au contraire, la plaie de la région externe de la cuisse est pendant longtemps couverte d'une sérosité visqueuse louche, sans que le blessé ait de la fièvre. Soupçonnant qu'un corps étranger peut se trouver au fond de cette plaie, nous pratiquons, le 21 novembre, une incision qui donne issue à une petite cuillerée de liquide sanieux, non purulent. Une application de teinture d'iode a pour fâcheux effet de macérer les bords de la plaie, qui se couvre ensuite de fausses membranes grisâtres et prend un aspect diphtéroïde. L'emploi du formol en solution faible, puis des lavages avec une solution de sulfate de cuivre à 10 p. 100, ou de la liqueur de Villatte étendue provoquent immédiatement le bourgeonnement et une cicatrisation rapide de cette lésion, depuis si longtemps inerte.

Obs. III. — Fauv... tombe le 9 septembre dans le bois de Mandray, près Saint-Dié, et constate que des aiguilles de sapin ont pénétré assez profondément dans les tissus mous de la paume de la main droite. Un œdème se produit assez rapidement et le blessé est évacué sur Belley, où trois incisions dorsales sont pratiquées sur la main tuméfiée ; elles livrent du pus mal lié. Malgré ces incisions, et bien qu'aucune fièvre ne se produise, le blessé garde un œdème douloureux de la main. Les douleurs sont surtout vives la nuit et s'exaspèrent manifestement sous l'influence de la chaleur du lit. Le 26 novembre, on retire de l'incision médiane un petit grain grisâtre, qui a été soumis à l'observation microscopique, ensuite de laquelle un traitement interne ioduré a été institué et est actuellement continué avec un certain succès. — (Dr E. Rouyer.)

II. — Note microbiologique.

L'exploration microscopique des pellicules détachées, par le frottis, des plaies décrites aux observations nos 1 et 2, accuse, au sein des hématies et débris cellulaires, des filaments mycéliens interrompus, qui se colorent parfaitement par le *bleu lactique*. Ces filaments rameux séparent un grand nombre de cellules, franchement elliptiques, ayant 5 à 6 μ environ dans le sens de leur plus grande dimension, et rappelant l'aspect de la *mycolevure*, étudiée par Duclaux. Il s'agit bien, au reste,

d'un saccharomycète, car les colorants de choix de ce groupe de champignons : le *bleu polychrome de Unna* et l'*hématoxyline ferrique-éosine* fournissent de beaux résultats positifs ; la *deltapurpurine* donne des résultats incertains sur la forme filamentaire, qui provient vraisemblablement d'une déformation cellulaire des cellules elliptiques. Ce micro-organisme cultive très bien sur fragment de carotte stérile, où il produit des touffes de colonies blanches s'étendant rapidement en devenant confluentes, à la température de 35°. Vues au microscope, ces colonies se résolvent en cellules rarement ovales, mais déformées par allongements filamentaires et articulées en paquets arborescents.

L'ensemble de ces caractères, malgré les lacunes d'expérimentation imposées par la précarité de nos ressources matérielles d'étude, nous autorise cependant à affirmer l'identification de ce *Saccharomyces* avec celui que Curtis a fait connaître en 1895, et décrit sous le nom de *Saccharomyces tumefaciens*, en l'extrayant de tumeurs et abcès sous-cutanés. C'est une levure sporulante, par conséquent appartenant au genre véritable *Saccharomyces*, que Meyen a opposé au genre *Cryptococcus* de Kutzing. On sait, d'ailleurs, que ces deux genres renferment plusieurs espèces pathogènes : parasites véritables ou parasites occasionnels d'effractions épidermiques préalables. Ces parasites sont responsables « chez l'Homme, d'affections nommées *blastomycoses*, mais qu'il serait préférable de dénommer *Saccharomycoses*, le terme *blastomyces*, préconisé par Frank, prêtant à confusion, par son extension à certaines urédinées et à une forme conidienne de gymnoascée. Presque toutes ces affections consistent en tumeurs du tissu conjonctif sous-cutané. » (F. Guéguen, *Les Champignons parasites de l'espèce humaine.*)

Les *Saccharomyces* étant des agents très actifs de combustion peuvent résister fort bien aux pansements à base d'eau oxygénée. D'autre part, les travaux de Effront établissant que l'acide fluorhydrique fournit un excellent moyen de sélection des levures alcooliques, il est à supposer que l'échec, affirmé plus haut, des traitements à l'eau iodée et à la teinture d'iode se rattache à un ordre de phénomènes analogues, en raison de la parenté chimique de l'iode et du fluor. Par contre, dans ses

recherches sur la fermentation lactique, le professeur Richet a démontré la grande toxicité des sels de cuivre pour cette action : le cuivre est, en effet, placé dans le premier groupe du classement par ordre de puissance des nombreux antiseptiques étudiés par lui. En fait, l'emploi combiné du formol dilué et du sulfate de cuivre, ou même de ce dernier corps seul en solution de faible concentration, ou sous forme de liqueur de Villatte étendue, a immédiatement provoqué la disparition du voile observé dans nos cas de mycoses et leurs guérisons consécutives. L'acide salicylique, étant aussi un très bon antiseptique des fermentations alcooliques, pourrait également être employé pour éliminer les réactions très douloureuses des plaies dues à l'usage du formol ou du sulfate de cuivre.

Quant à l'origine probable des infections constatées, nous croyons qu'il faut la rapporter au voisinage des vignobles importants qui entourent l'hôpital de Belley, sur le coteau de Brailles, au pied duquel s'abrite la ville. Les immortels travaux de Pasteur ont depuis longtemps signalé la richesse de la *flore de levures sauvages*, vivant sur la pellicule des raisins et des fruits approchant de la maturité. A deux époques de l'année : au printemps (le vocable bien connu de *bière de mars*, pour désigner la qualité de cette boisson fabriquée pendant ce mois, répond à cette première conjecture) et au moment des vendanges, la diffusion atmosphérique de ces micro-organismes est extrêmement abondante. L'évacuation des blessés sur l'hôpital de Belley ayant coïncidé ici avec l'époque des vendanges, il est fort possible que cette circonstance explique l'origine de nos mycoses de blessures.

Dans le grain provenant de l'observation n° 3, le microscope a décelé une forme cryptogamique du groupe des *fungi imperfecti*, très voisine du genre *Oospora* et des caractères du genre *Oïdium*, mais qui, très vraisemblablement, appartient au genre *Monilia*, par l'existence d'un *disjunctor* entre les conidies. Il ne nous a pas d'ailleurs été possible d'en identifier l'espèce avec certitude. Ce champignon *prend le Gram*. Il cultive sur grain de blé, papier jaune de paille et divers débris de feuilles sèches, à la condition que l'atmosphère ambiante soit maintenue suffisamment humide pendant la culture. La résolution

des œdèmes, déterminés par ce contage, paraît être justiciable du traitement ioduré interne, surtout lorsque cette intervention est précoce et si elle est favorisée par le maintien d'une active irrigation sanguine locale (massages); ces conditions, on le sait, assurent également l'efficacité de la thérapeutique analogue dans les cas d'actinomycoses. Ce traitement ioduré est actuellement en cours dans l'espèce observée ici. La radioscopie n'a révélé aucune lésion osseuse causée par cette forme monilienne. — J. Pellissier.

Conclusions.

Ces trois cas nous ont paru intéressants à rapporter, en ce sens qu'ils révèlent l'existence de mycoses venant compliquer, d'une façon très inattendue, les plaies de guerre, au point d'apporter un retard prolongé à leur complète cicatrisation. La bonne foi des blessés pourrait, à cette occasion, être parfois mise en doute et, volontiers, on serait porté à les soupçonner d'entretenir leurs plaies pour en éloigner volontairement la guérison. Nos observations montrent combien il faut être prudent avant d'émettre pareille appréciation. Elles indiquent également que la thérapeutique usuelle à l'eau oxygénée et à la teinture d'iode est tout à fait contre-indiquée en pareils cas; on doit lui substituer l'emploi du formol ou du sulfate de cuivre, qui, dans ces circonstances, s'opposent au développement de champignons.

Enfin, il est permis de se demander si ces cryptogames, fortement aérobies, ne favorisent pas l'évolution de certains microbes très virulents, parce que leur vie anaérobie est ainsi favorisée par cette symbiose; et, en particulier, si on ne trouverait pas ces mycoses à l'origine de septicémies qu'on a vu se développer d'une façon tardive, quinze à vingt jours après l'entrée à l'hôpital et alors qu'une antisepsie très rigoureuse paraissait avoir tari toute cause de suppuration.

LA TUBERCULOSE DU PORC
ÉPIDÉMIOLOGIE,
PATHOGÉNIE ET ÉVOLUTION COMPARÉES

par P. CHAUSSÉ.

Faute de documents précis et d'études anatomo-pathologiques, on ne saurait se faire une idée nette de la tuberculose porcine en France. Par contre, certains pays étrangers, qui nous ont devancés dans l'organisation méthodique de l'inspection des viandes et dans la technique de cette inspection, nous fournissent de nombreuses statistiques intéressantes à consulter et à comparer à celles que nous commençons à réunir.

De 1880 à 1891, Rieck (cité par Ostertag, in *Handbuch der Fleischbeschau*, 1902, page 646) fit l'autopsie de 430 porcs tuberculeux généralisés et il trouva que, pour 100 cas, les lésions présentaient la topographie suivante :

Poumons	100 » p. 100	Viande (c'est-à-dire ganglions ?)	49,3 p. 100
Foie	83 » —	Rate	18,6 —
Intestins	73 » —	Mamelle	16,8 —
Séreuses	57,4 —	Os	8,8 —
Reins	52,5 —		

En 1886, c'est-à-dire vers la même époque, la tuberculose porcine était fort peu connue en France ; cela était dû surtout à sa moindre fréquence qu'en Allemagne. Villain et Bascou mentionnaient, comme observations rares, 4 cas de cette maladie recueillis aux abattoirs de Grenelle, sur un effectif important d'animaux abattus.

De même à Rouen, en quatre années, Veyssière (cité par Strauss dans *La tuberculose et son bacille*, 1895, page 342) ne trouvait que 15 porcs tuberculeux sur 38.164 abattus, soit 1 pour 2.544, chiffre qui représente également aujourd'hui la morbidité reconnue dans le plus grand nombre des abattoirs français, mais non la morbidité réelle.

En 1889, Nocard (*Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire*, page 456) rapportait avoir observé six cas de tuberculose porcine; il ajoutait que la maladie évolue rapidement dans cette espèce, que l'examen microscopique des lésions montre de nombreuses cellules géantes, mais rarement des bacilles, et, enfin, que l'inoculation du virus au lapin, en série, donne une tuberculose qui évolue de plus en plus vite, fait qui s'observe aussi avec la scrofulose; de cette dernière affection, il rapprochait la tuberculose porcine.

La même année, Moulé signale un cas de tuberculose musculaire découvert dans un jambon d'origine française, envoyé aux Halles de Paris.

Dès cette époque, on pouvait se rendre compte que la tuberculose porcine était bien plus fréquente à l'étranger qu'en France.

En 1892, Völkel (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1892-1893, page 199) trouvait 91 porcs tuberculeux sur 2.315 abattus à Elbing (Prusse occidentale), soit 3,9 p. 100, et il insistait avec raison sur l'importance de l'examen des ganglions sous-maxillaires pour le diagnostic de la maladie après abatage. Ces 91 animaux, *sans exception*, avaient des lésions de ces ganglions, d'où l'auteur concluait que ces ganglions doivent être considérés comme le lieu de prédilection de la tuberculose porcine. Pour reconnaître la maladie, il suffit, dit Völkel, d'examiner les ganglions sous-maxillaires, pulmonaires et hépatiques.

Stubbe (*Annales de médecine vétérinaire*, 1893) montre pareillement que la maladie est fréquente sur les porcs belges et qu'elle intéresse particulièrement le système lymphatique; il confirme l'opinion d'après laquelle il s'agit d'une tuberculose d'ingestion et il attribue l'infection à ce qu'une grande partie des porcs prennent, à l'état cru, des viandes saisies provenant des ateliers d'équarrissage.

Simultanément Ostertag (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1893, page 1), croyait devoir attirer l'attention sur l'accroissement de cette affection contagieuse dans la région du nord de l'Empire et en Danemark; il attribuait cette recrudescence à l'emploi du lait centrifugé comme aliment principal du porc. A cette époque, la proportion moyenne des porcs tuber-

culeux était, en Allemagne, selon cet auteur, de 3 à 4 p. 100, ainsi que le constatait Völkel; en Danemark, cette proportion atteignait 10 à 14 p. 100; mais, si l'on considérait particulièrement le nord de l'Allemagne, on trouvait que la tuberculose porcine y sévissait dans la proportion de 0,53 p. 100 en 1883-1884, pour passer à celle de 2,72 p. 100 en 1891-1892.

Ostertag affirmait aussi que la tuberculose porcine est une *tuberculose d'ingestion typique*. Son augmentation de fréquence tient, dit-il, à ce que les porcs boivent cru le dépôt ou limon (Centrifugenschlamm) résultant de la centrifugation des laits mélangés, car ce dépôt contient les bacilles qui peuvent se trouver occasionnellement dans le lait. La quantité de limon varie entre 0,04 et 0,125 p. 100 du poids du lait. Au point de vue nutritif, la composition du petit-lait est de :

Eau.	67,318 p. 100	Lactose et divers.	2,08 p. 100
Matières grasses	1,118 —	Cendres.	3,56 —
Matières protéiques.	25,89 —		

Il s'agit donc d'une alimentation presque exclusivement azotée.

Quant aux caractères anatomo-pathologiques, dans la généralisation, Ostertag considère que la participation de la rate est la même que chez le bœuf (*Handbuch der Fleischbeschau*, 1902, page 646); toutefois la tuberculose osseuse, particulièrement celle des vertèbres, est plus fréquente que chez les bovidés.

Wilbrandt (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1893-1894, page 48) proteste contre l'opinion de Völkel de se limiter, pour le diagnostic, à l'examen des ganglions maxillaires, car, selon lui, il y a de nombreux cas où ces ganglions ne sont pas lésés, bien que l'affection soit généralisée.

En 1895, Niel (*Recueil de médecine vétérinaire*, 15 février, page 98) signalait 2 cas de tuberculose porcine généralisée, à l'abattoir de Draguignan; c'étaient les deux seuls cas observés par ce praticien pendant une période de quinze années.

Zchokke (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1896-1897, page 34) fait connaître quelques observations rares : tuberculose de l'ethmoïde, de la muqueuse nasale, du conduit auditif.

Lungwitz (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1896-1897, page 217) publie une statistique portant sur 178.739 porcs abattus à Leipzig, de 1893 à 1895; sur ce nombre il y avait seulement 141 tuberculeux, soit 0,08 p. 100.

Borgeaud, vétérinaire directeur des abattoirs de Lausanne (*Progrès vétérinaire*, 1897, n° 4, p. 19) déclare avoir observé un grand nombre de cas de tuberculose osseuse; il attribue l'infection à l'usage de lait tuberculeux pour la nourriture du porc, car il constate en même temps la fréquence de la pommelière sur les vaches sacrifiées à l'abattoir.

En Amérique, More et Dawson (*Bureau of Animal Industry*, 1897) reconnaissent l'existence de la scrofulose porcine.

Mais c'est Ströse qui, en 1897 (*Deutsche tierärzt. Wochenschr.*, p. 239), publie, selon nous, le meilleur travail sur cette affection, si l'on considère seulement son stade initial. Sur 50 porcs examinés avec soin, atteints de tuberculose limitée aux ganglions cervicaux, aucun ne présentait la lésion initiale ailleurs que dans les amygdales staphylines. Ströse coupe et examine les lésions amygdaliennes : « Les bacilles tuberculeux arrivent dans les *foramina cæca* des amygdales et provoquent l'inflammation dans les follicules lymphatiques; dans la règle, la tuberculose reste limitée au *stratum proprium*; les tubercules sont petits et contiennent un nombre proportionnel de cellules géantes, puis, de bonne heure, ils dégénèrent au centre; les noyaux cellulaires disparaissent et il se forme des masses « *en mottes* » (schöllige Massen). Régulièrement, le tubercule est entouré d'une enveloppe conjonctive infiltrée de cellules rondes. »

Ströse admet la progression du virus des ganglions cervicaux à ceux du poumon, et, de ces derniers, au poumon lui-même, ce qui, à notre avis, ne peut être accepté; et il termine par quelques considérations sur les autres étapes observées pendant l'extension de la maladie. Dans le cas de tuberculose localisée à la région cervicale, l'auteur pense qu'il suffit d'enlever les amygdales et les ganglions correspondants, conduite que nous ne saurions également approuver, mais il n'indique pas ce qu'il convient de faire dans les nombreux autres cas.

Ströse avait précédemment relaté une observation de tuber-

culose musculaire d'origine embolique (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1894-1895, page 52) qui nous semble d'une autre nature puisque des lapins inoculés dans le péritoine, avec le suc des muscles atteints, ne devinrent pas tuberculeux. Cela nous montre qu'il y a eu vraisemblablement des erreurs dans les diverses observations relatives à la tuberculose porcine, surtout en ce qui concerne les localisations rares.

Dans des travaux plus récents, au contraire, la pénétration habituelle par les amygdales est mise en doute.

En effet, Kunibert Müller (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, mai 1903) examine à Guben (Brandebourg) 1.328 porcs; il trouve 119 fois de la tuberculose des ganglions mésentériques, 25 fois de la tuberculose des ganglions sous-maxillaires, 19 fois des lésions hépatiques, 15 fois des lésions pulmonaires, et 2 fois des tubercules spléniques. Dans 50 p. 100 des cas, la tuberculose de l'intestin était bien visible à l'œil nu, sans faire de coupes. Sur le total des animaux sacrifiés 8,96 p. 100 sont atteints de la maladie.

Au VIIIe Congrès international de médecine vétérinaire, tenu à Buda-Pesth en 1905, la question des voies de pénétration du virus étant à l'ordre du jour, comme elle l'a été depuis dans de nombreuses réunions, l'un des vétérinaires allemands les plus qualifiés, Bongert, conclut dans son rapport que l'infection par voie intestinale se produit surtout chez les veaux et les porcs, les carnivores et les volailles.

La pathogénie de la tuberculose porcine est restée incertaine et incomplètement connue malgré la publication de ces diverses opinions, car celles-ci ont été succinctement exprimées, et n'ont pas reçu l'appui de documents suffisamment démonstratifs. Depuis les communications ci-dessus, la maladie est constatée un peu partout et donne lieu à des indications statistiques n'ayant qu'une valeur relative.

Mendoza (*Revue générale de médecine vétérinaire*, 1906, tome VIII, page 280; extrait de la *Revista de la Facultad de agronomia y veterinaria*, février 1906, page 366) montre l'augmentation de la tuberculose porcine dans la République Argentine, d'après les abatages effectués à l'abattoir de Liniers (Buenos-Aires). Cette morbidité est de 6,50 p. 100 en 1899, de 10,86 p. 100 en 1903, de 10,23 p. 100 en 1904, et de 8,98 p. 100

en 1905. Tantôt on se trouve en présence de lésions généralisées et tantôt en présence de lésions localisées ; la pénétration par les amygdales et les ganglions maxillaires, sous-glossiens et rétro-pharyngiens est la plus fréquente.

En France, Morot (*Journal de médecine vétérinaire*, 1909), inspecteur honoraire de la ville de Troyes, découvre en 1907 23 porcs tuberculeux sur 7.192 abattus, soit 0,32 p. 100 ; en 1908, 14 tuberculeux sur 6.995, soit 0,20 p. 100. Ce sont là les chiffres qui nous paraissent se rapprocher le plus de la vérité pour la morbidité porcine dans notre pays. Sur ces 37 porcs tuberculeux, 25 sont saisis totalement et 12 partiellement. La maladie est généralement reconnue par l'examen de la langue et de la « fressure » [poumons, foie, rate].

En Belgique, Mullie (*Annales de médecine vétérinaire*, 1907, page 358), conclut d'une étude statistique locale que la tuberculose porcine varie, dans sa fréquence, parallèlement à la tuberculose bovine, constatation qu'il faut attribuer sans doute au défaut de pasteurisation du lait.

Junack (cité par Linnenbrink ; I. D. Berne, 1909 ; ou bien Junack, in *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1906-1907, page 164) croit découvrir chez le porc une forme de tuberculose sans caséification et sans calcification ; mais il se base sur un seul fait qui, au surplus, n'est pas probant : sur un porc tuberculeux généralisé un ganglion crural, non lésé macroscopiquement ni histologiquement, est reconnu virulent par inoculation au lapin et au cobaye ; d'où l'on doit conclure, selon nous, que ce ganglion était bacillaire et que vraisemblablement, dans le délai normal, il fût devenu caséeux. Il est toujours possible, surtout chez des animaux tuberculeux généralisés, de surprendre des lésions en incubation et la conclusion de Junack est une hypothèse qui ne peut être retenue.

Parmi les travaux récents il faut encore citer ceux de Haffner, Langrand, Mohler et Wasburn et de Petersen.

Haffner (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1907-1908, page 7) examine 10.000 porcs et trouve 580 tuberculeux, soit 5,80 p. 100. Dans 48 cas en tout il y avait des lésions osseuses ; 22 fois les vertèbres seules étaient atteintes ; 22 fois elles étaient lésées en même temps que d'autres os ; 4 fois des os autres que ceux du rachis étaient tuberculeux. La proportion des tuber-

culoses osseuses est de 8,2 p. 100 des animaux tuberculeux. En outre Haffner constate que parfois les ganglions correspondant à des foyers bacillaires osseux ne sont pas lésés en apparence; d'où il résulte que, pour le diagnostic, l'examen des ganglions ne suffit pas.

Notre confrère Langrand (*Hygiène de la viande et du lait*, 1908, page 537) étudie en particulier les lésions tuberculeuses pulmonaires du porc d'après l'examen à l'œil nu, ainsi que la répartition générale des altérations. Sur 100 cas sont lésés :

Ganglions sous-maxillaires.	68 fois.	Rate	34 fois.
— pharyngiens.	62 —	Ganglions mésentériques	60 —
— parotidiens	42 —	Amygdales	8 —
— préscapulaires	44 —	Reins	2 —
Poumons	80 —	Ganglions poplités	14 —
Ganglions pulmonaires	85 —	— inguinaux	20 —
Plèvre	40 —	— cruraux	8 —
Foie	52 —	Vertèbres	6 —
Ganglions hépatiques	58 —		

Cette répartition ne met pas en évidence le rôle des lésions amygdaliennes admis par de précédents auteurs ni celui des ganglions maxillaires, et, par cela même, elle le contredit.

Mohler et Wasburn (*The Veterinary Journal*, janvier 1908, page 14) disent au contraire que 93 p. 100 des porcs tuberculeux ont des lésions des amygdales; ils attribuent l'infection au lait et aux matières fécales des ruminants. Ryder (cité par ces auteurs) trouve 1,50 p. 100 de porcs tuberculeux dans l'Amérique du Nord, à Kansas-City.

Enfin Petersen, à Axel (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, avril 1909, page 254), trouve 109 porcs tuberculeux sur 1.141, soit 9,55 p. 100 ; 30 fois les ganglions maxillaires seuls sont lésés ; 37 fois ils sont tuberculeux en même temps que d'autres ganglions ; les ganglions mésentériques sont seuls atteints 33 fois. Cela semble indiquer qu'il y a lieu de considérer au moins deux points de pénétration dont l'importance respective n'est pas connue : la région cervicale et l'intestin.

Tels sont les principaux travaux publiés sur la tuberculose porcine. Cette maladie a certes donné lieu à un très grand nombre d'autres observations qu'il n'est pas possible de citer.

Malgré cette abondance de documents, presque tous puisés à

l'étranger, il nous paraît cependant utile de publier les résultats de nos recherches poursuivies en France (abattoir de Versailles) depuis neuf ans ; de ces recherches nous espérons pouvoir dégager les notions pathogéniques générales, véritablement intéressantes au point de vue scientifique pur et pratiquement indispensables à l'inspection des viandes, qui caractérisent la maladie dans cette espèce.

*
* *

I. — Morbidité tuberculeuse bovine et porcine.

Pour avoir une idée aussi exacte que possible de la morbidité de ces deux espèces, il faut prendre les statistiques les plus récentes.

Disons tout de suite que les augmentations signalées par Ostertag, Mendoza et quelques autres auteurs sont très vraisemblablement des apparences, du moins dans les pays où le porc ingère depuis des siècles les résidus de laiterie. Depuis que les maladies sont mieux connues, les méthodes d'examen se sont perfectionnées et les augmentations tiennent en réalité à un diagnostic plus précis et à une attention mise en éveil pour les cas peu apparents ; en Allemagne et en Danemark, avant la centrifugation des laits, les porcs ingéraient les mêmes liquides, bacillaires parfois ; mais il y a trente ou quarante ans, la tuberculose porcine était souvent méconnue, comme elle l'est encore aujourd'hui, dans maints abattoirs.

Le tableau I, ci-contre, montre quelles sont les constatations faites au sujet de la fréquence de cette maladie dans un certain nombre des abattoirs français. Tandis que la morbidité tuberculeuse des vaches y est de 2 à 21 p. 100 environ, celle du porc est de 0 à 0,63 p. 100. Aux abattoirs de la Villette, la tuberculose porcine, exceptionnelle il y a trente ans, existe dans la proportion de 0,20 p. 100 des animaux, mais cette augmentation est attribuée en grande partie à l'importation des porcs hollandais qui sont plus fréquemment atteints. A Nancy et à Reims, cette proportion est de 0,30 p. 100, mais il faut tenir compte également de ce fait qu'une partie des porcs abattus proviennent de Hollande.

TABLEAU I.

Morbidité tuberculeuse animale dans quelques abattoirs français.

VILLES	BOEUFS et TAUREAUX	VACHES	VEAUX	PORCS
	pour cent.	pour cent.	pour cent.	pour cent.
Paris (1911)	2,18		0,02	0,20
Lyon (1911)	0,88		0,022	0,012
Bordeaux (1911)	1,50	7,61	0,018	»
Marseille (1910)	0,57	2,67	0,01	0,07
Nancy (1911)	0,79	5,24	0,03	0,35
Reims (1911)	2,5	7,6	0,20	0,36
Mâcon (1911)	0,18	1,9	0,02	0,05
Grenoble (1911)	2,47	5,85	0,04	0,016
Chambéry (1911)	3,47	8,72	0,04	0,40
Gap (1911)	1,50	5,79	0,06	0,01
Dijon (1911)	0,5	1,87	0,014	0,027
Toulouse (1911)	0,49	1,32	0,02	»
Avignon (1911)	0,66	4,21	0,93	0,57
Rennes (1911)	4,57	20,94	0,037	0,14
Épinal (1911)	1,84	6,32	0,03	»
Troyes (1907)	»	»	»	0,32
— (1908)	»	»	»	0,20
— (1913)	3,02	5,08	0,13	0,02
Toulon (1911)	2,70	11,76	»	0,19
Versailles (1910)	2,88	12,21	0,40	0,635
— (1911)	3,18	9,94	0,194	0,56
— (1912)	2,84	7,87	0,22	0,58
— (1913)	4,39	8,86	0,149	0,439

A Versailles, il n'est abattu que des porcs d'origine française; ces animaux proviennent de Normandie et surtout de Bretagne (Sarthe, Mayenne, Ille-et-Vilaine, Côtes-du-Nord). Sachant que ces départements sont des plus éprouvés par la tuberculose bovine, on doit estimer que les chiffres trouvés à Versailles pour la tuberculose porcine sont un peu trop forts si on les applique à l'ensemble de la France. Dans les quatre années consécutives, 1910, 1911, 1912 et 1913, sur 30.000 animaux examinés, la morbidité porcine a été de 0,44 à 0,63 p. 100.

Ajoutons que la perte réelle de viande porcine, pour ce motif de saisie, est notablement plus faible, puisque les cas peu

avancés n'entraînent que la saisie des viscères. Pour 100 kilogrammes de porc abattu, la perte pour cause de tuberculose est de 0,20 à 0,25 à l'abattoir de Versailles, soit un animal pour 400 à 500 abattus ; cette perte est de 0,40 p. 100 à Nantes, soit un animal pour 250 abattus, mais elle est beaucoup moindre dans la généralité des abattoirs français et l'on peut dire que pour la France entière, la tuberculose porcine ne motive certainement pas la saisie d'un animal pour 1.000 abattus (tableau II).

Tableau II.

Proportions de viande de porc saisie pour tuberculose dans quelques abattoirs français (*pour* 100 *kilogrammes abattus*).

Troyes (1911)	0,08	Auch (1911)	0,07
Besançon (1911)	0,014	Troyes (1913)	0,01
Blois (1911)	0,05	Orléans (1913)	0,068
Nantes (1911)	0,40	Marseille (1911)	0,08
Le Puy (1911)	0,08	Versailles (1911)	0,24
Évreux (1911)	0,03	— (1912)	0,25
Pau (1911)	0,16	— (1913)	0,20

Dans la plupart des autres pays d'Europe et d'Amérique la tuberculose porcine est beaucoup plus fréquente qu'en France.

En Belgique, la situation est sensiblement la même qu'en France : 12,27 p. 100 des vaches, 0,157 p. 100 des veaux et 0,29 p. 100 des porcs; chiffres recueillis aux abattoirs de Bruxelles par M. Fally, vétérinaire, pendant l'année 1912.

Au Luxembourg, Spartz a fait connaître pour 1912 les proportions plus élevées de 22,9 p. 100 des vaches et de 0,97 p. 100 pour les porcs.

En Hollande, la morbidité est, en 1904 : à Amsterdam, de 14,1 p. 100 des bovins adultes, 0,11 p. 100 des veaux et 3,2 p. 100 des porcs ; à Leyde, de 33,4 p. 100 des vaches, 0,54 p. 100 des veaux et 8,2 p. 100 des porcs; à Rotterdam, de 11 p. 100 des bovins adultes, 0,2 p. 100 des veaux et 2,15 p. 100 des porcs ; à Nimègue, de 12,9 p. 100 des bovins et 6,82 p. 100 des porcs. Mais dans de nombreuses autres villes de moindre importance la morbidité est plus faible, probablement parce que l'examen est moins sévère ; au total pour les abattoirs hollandais, d'après les chiffres publiés par le ministère de l'Agriculture pour l'année 1904, sur 368.184 porcs 1,49 p. 100 ont été trouvés

tuberculeux, proportion beaucoup plus forte que celle enregistrée en France. Enfin, sur les porcs exportés par la Hollande, en 1906, 3,76 p. 100 sont tuberculeux; pour les mêmes animaux exportés la proportion locale est en 1906, de 5,05 p. 100 à la Frize, 5,83 p. 100 dans la province d'Utrecht, 6,65 p. 100 dans le sud de la Hollande, et 6,76 p. 100 dans le nord de la Hollande.

D'après Eastwood et Griffith, la maladie scrofuleuse porcine est également très répandue en Angleterre (*The Lancet*, 2 mai 1914, p. 1968); sur 24.144 porcs examinés par ces auteurs à l'abattoir de Brighton, 2,73 p. 100 sont tuberculeux, dont 1,50 p. 100 environ ont des lésions généralisées.

En Bavière, en 1903, 16,1 p. 100 des vaches, 0,19 p. 100 des veaux et 1,1 p. 100 des porcs sont infectés; en Saxe (1906) 67,01 p. 100 des vaches, 1,12 p. 100 des veaux et 7,58 p. 100 des porcs; à Leipzig (1908) 46,8 p. 100 des vaches, 0,10 p. 100 des veaux et 2,70 p. 100 des porcs; à Berlin (1907-1908) 56,94 p. 100 des vaches, 0,87 p. 100 des veaux et 4,43 p. 100 des porcs sont reconnus tuberculeux.

Il a été maintes fois parlé de la fréquence de la tuberculose porcine en Danemark. En 1907, les tueries coopératives pour exportation y ont sacrifié 1.307.120 animaux dont 3,62 p. 100 étaient tuberculeux et 0,16 p. 100 ont été saisis totalement; en 1911, dans les tueries industrielles danoises, la fréquence de la tuberculose porcine est de 4,48 p. 100 (*Hyg. de la viande et du lait*, 1913, p. 108). Ces chiffres nous semblent beaucoup trop faibles, et peut-être ne correspondent-ils pas à la réalité, car sur les animaux abattus à l'abattoir de Copenhague les proportions sont de trois à six fois plus fortes et cela d'une façon régulière de 1897 à 1910; dans cette ville les porcs sacrifiés aux abattoirs et provenant de la banlieue sont tuberculeux dans la proportion de 18 p. 100 en 1897, 14,95 p. 100 en 1904, 30,37 p. 100 en 1907, 21,35 p. 100 en 1909-1910; tous ces animaux ne sont pas saisis mais, dans ces mêmes années, 9,53 p. 100 sont estampillés de 2e classe et 1,51 p. 100 sont saisis totalement (en 1897); en 1904, 4,93 p. 100 sont estampillés de 2e classe et 0,63 p. 100 sont saisis totalement; en 1907, bien que 30,37 p. 100 soient tuberculeux, 4,23 p. 100 sont estampillés de 2e classe et 0,49 p. 100 sont saisis totalement; enfin, en 1909-1910, 7,49 p. 100 sont estampillés de

2e classe et 0,78 p. 100 sont saisis totalement. Il est difficile de dire si la diminution dans le chiffre des saisies correspond à une diminution réelle de la maladie, mais il est plus vraisemblable d'admettre qu'elle est due à une tolérance plus grande puisqu'en 1907, par exemple, sur 30,37 p. 100 de tuberculeux, 0,49 p. 100 seulement sont frappés de saisie totale.

Tableau III.

Morbidité tuberculeuse animale dans quelques pays d'Europe.

BŒUFS	TAUREAUX	VACHES	JEUNES ANIMAUX	VEAUX	PORCS
pour cent.	pour cent.	pour cent.	pour cent.	pour cent.	pour cent.
(1) 2,37	2,45	12,27	»	0,157	0,28
(2) 7,3	5,7	16,1	4,05	0,19	1,1
(3) 56,37	85,97	67,01	7,32	1,12	7,58
(4) 38,03	31,09	56,94	3,61	0,87	4,43
(5) 27,1	11,7	22,9	»	0,237	0,97
(6) 30,40	47,87	68,54	13,56	0,87-1,88	4,31
(7) »	32,83		»	1,69	4,69
(8) »	33,40		»	0,54	8,2
(9) 20,81	8,79	19,94	0,89	0,02	1,63
(10) 1 »	4 »	14 »	»	0,3	1 »

(1) Tuberculose à l'abattoir de Bruxelles, en 1912 (vétérinaire Fally).
(2) — en Bavière, en 1903 (vétérinaire Preusse).
(3) — en Saxe, en 1906, à Freiberg (vétérinaire Mielach).
(4) — à l'abattoir de Berlin, en 1907-1908 (vétérinaire Henschel).
(5) — — de Luxembourg, en 1912 (vétérinaire Spartz).
(6) — — de Malmoë (Suède), en 1907 (vétérinaire Bergmann).
(7) — — de Copenhague, en 1911 (vétérinaire Rasmussen).
(8) — — de Leyde (Hollande), en 1904.
(9) — — de Buda-Pesth, en 1912 (vétérinaire Brenn).
(10) — — de Novare (Italie), en 1911 (vétérinaire Ginotti).

En Suède (abattoirs de Malmoë en 1907), il y a 68,54 p. 100 des vaches, 0,87 à 1.88 p. 100 des veaux et 4,51 p. 100 des porcs qui sont atteints. A Stockholm (1903), 5,6 p. 100 des porcs sont tuberculeux.

Les chiffres statistiques nous manquent pour apprécier la

fréquence de la tuberculose porcine dans de nombreux pays. Il semble que la Russie soit touchée au même point que l'Allemagne et la Suède, si l'on en juge par la proportion relevée sur les animaux originaires de Russie, importés en Allemagne et sacrifiés à l'abattoir frontière de Königshütte en 1906, laquelle proportion est de 6,56 p. 100.

En Italie la morbidité porcine indiquée est très variable; à Novare (1911) : 14 p. 100 des vaches, 0,3 p. 100 des veaux et 1 p. 100 des porcs; à Modane (1912) : 20,06 p. 100 des vaches, 1,91 p. 100 des veaux et 11,2 p. 100 des porcs.

On sait qu'en Algérie la tuberculose bovine et porcine est des plus rares.

En Amérique du Nord, la morbidité porcine paraît assez rapprochée de celle enregistrée en France; Moore et Dawson rapportent qu'en 1905, sur plus de 25 millions de porcs abattus, 0,81 p. 100 étaient tuberculeux, dans l'ensemble des États-Unis; par contre Mohler et Wasburn indiquaient la proportion de 1,5 p. 100 à Kansas-City en 1906.

Dans l'Amérique du Sud la tuberculose porcine semble prendre les mêmes proportions que dans la Hollande, l'Allemagne, le Danemark, la Suède et la Norvège; elle est de 5 p. 100 environ à Santiago-du-Chili, 8,98 p. 100 aux abattoirs de Buenos-Aires (République Argentine), 2 à 3 p. 100 à Montevideo et Santa-Lucia (Uruguay); parallèlement la tuberculose des vaches laitières est de 14,51 p. 100 dans ces deux dernières villes.

Si nous comparons maintenant la France à ces divers pays, sous le rapport de la tuberculose animale, nous constatons que cette affection contagieuse sévit chez nous avec une intensité moindre le plus souvent, aussi bien chez le bœuf que chez le porc. Par contre, nous savons que la tuberculose humaine est généralement plus fréquente ou aussi fréquente en France qu'à l'étranger; en d'autres termes il n'y a aucun parallélisme entre la morbidité humaine et celle des animaux et ce fait contribue à démontrer que les deux affections n'ont pas la même origine.

Une autre indication doit être tirée de ces statistiques : la tuberculose des vaches est toujours la plus fréquente; celle du

veau est de 30 à 100 fois plus rare; celle du porc tient le milieu entre ces deux extrêmes, étant de quatre à vingt fois environ moins fréquente que celle de la vache. La différence entre les tuberculoses du veau et du porc, au point de vue statistique, nous paraît due à ce que ce dernier animal boit des laits mélangés, par conséquent plus souvent bacillaires que des laits séparés, et en outre, à une réceptivité spéciale de l'espèce porcine pour le virus bovin. Le jeune bovin, au contraire, n'ingère en général que le lait maternel; enfin le porc reçoit parfois divers déchets organiques qui peuvent être tuberculigènes à un degré difficile à apprécier.

*
* *

II. — Voies d'infection chez le porc.

Il faut considérer quatre voies d'infection dans la tuberculose porcine; par association des deux premières voies nous avons en réalité cinq types morbides. Ce sont, par ordre de fréquence :

1° La *voie amygdalienne* et lymphatique cervicale, laquelle est en cause dans plus de 80 p. 100 des observations;

2° La *voie intestinale* qui emprunte les chylifères et le canal thoracique, et peut comprendre environ 1/10 des cas;

3° La *voie mixte*, c'est-à-dire *amygdalienne et intestinale* à la fois; ce cas est fréquent, mais il existe surtout avec prépondérance du premier mode d'infection; c'est pourquoi le plus grand nombre des cas mixtes sont classés par nous dans la première catégorie;

4° La *voie aérienne directe* ou *inhalation*, qui n'est guère à considérer que dans 2 ou 3 p. 100 des observations;

5° La *voie génitale* à laquelle se rattachent un petit nombre de cas dans lesquels la maladie est inoculée par la plaie de castration.

Nous n'envisagerons pas ici les cas exceptionnels d'inoculation par un autre point du corps; nous n'en avons observé aucun.

On peut encore mentionner la possibilité de l'infection simul-

tanée par inhalation et par l'une des premièrs voies : amygdalienne ou intestinale.

*
* *

III. — Voie amygdalienne et lymphatique cervicale.

I. *Adénopathies caséeuses cervicales.* — Tous les vétérinaires ayant fait de l'inspection des viandes connaissent ces adénopathies caséeuses du cou chez le porc, lesquelles ont fait donner le nom de scrofulose (de *scrofa* : truie) aux mêmes adénopathies cervicales dans l'espèce humaine; ce terme très anciennement employé prouve que la connaissance de la tuberculose porcine est de date fort ancienne; peut-être même cette maladie a-t-elle été autrefois plus fréquente qu'aujourd'hui. Ainsi que nous allons le constater d'une façon particulièrement nette, ces lésions ganglionnaires cervicales témoignent de la pénétration de l'agent pathogène par la région bucco-pharyngienne.

Ce sont presque toujours les ganglions maxillaires qui sont hypertrophiés et caséeux (fig. 1); leur volume peut atteindre et même dépasser celui du poing tandis qu'ils sont normalement de la grosseur d'une petite noix. Infectés depuis un certain temps la consistance de ces ganglions devient dure à la palpation; plus tard la matière caséeuse subit une sorte de fonte progressive et on observe de la fluctuation; à un dernier stade la substance ramollie est évacuée à travers le tégument et il persiste une ou plusieurs fistules. Le plus souvent, chez les animaux sacrifiés pour l'alimentation, le ramollissement et la fistulisation n'ont pas eu le temps de se produire et on observe seulement le stade fibro-caséeux.

Les ganglions parotidiens et rétro-pharyngiens ne sont touchés que secondairement; leurs altérations sont en conséquence moins avancées que celles des ganglions maxillaires.

Sur la coupe l'adénopathie caséeuse du porc a un aspect variable; en général, elle doit être rapprochée soit de la tuberculose hypertrophiante caséeuse homogène, soit de la tuberculose hypertrophiante demi-caséeuse, types des adénopathies tuberculeuses bovines que nous avons décrites avec le professeur H. Vallée (*Bull. de la Soc. d'études scientifiques sur la*



Fig. 1. — *Photographie de la langue retirée de l'espace intermaxillaire dans un cas de tuberculose porcine.*

L, larynx ; SM, ganglion sous-maxillaire hypertrophié et fibro-caséeux ; ce ganglion est incisé et la figure montre les deux moitiés superposables.

tuberculose, février 1909; *Revue générale de médecine vétérinaire*, 15 février 1909); c'est-à-dire que, sur la coupe, le tissu ganglionnaire hypertrophié est uniformément caséifié, de couleur mastic, ou incomplètement mortifié; dans ce dernier cas les stries caséeuses irrégulières sont séparées par du tissu ganglionnaire enflammé d'apparence sarcomateuse. Le plus souvent c'est ce dernier aspect que l'on rencontre.

Parfois l'adénopathie ne s'accompagne que d'une très faible hypertrophie; la matière caséeuse se concrète et s'enkyste; elle est constituée par une ou plusieurs masses isolées ou confluentes, caséo-calcaires, mastic, de forme irrégulière, ne dessinant jamais, comme chez le bœuf, des tubercules régulièrement sphériques. Il faut savoir qu'il existe chez le porc une adénopathie caséeuse nodulaire siégeant précisément dans les ganglions maxillaires ou mésentériques, qui n'est pas due au bacille de Koch ainsi que nous l'avons établi en pratiquant des inoculations au cobaye; dans cette lésion non tuberculeuse les nodules sont assez fortement calcifiés, plus nettement dessinés que dans la tuberculose, et enchâssés dans un tissu ganglionnaire peu altéré; la glande est de volume normal ou à peine hypertrophiée.

Très exceptionnellement on rencontre une adénopathie bacillaire à peine caséeuse, appartenant au type hypertrophique ou sarcomateux, et qui doit être assimilée à la tuberculose hypertrophiante très peu caséeuse du bœuf (H. Vallée et P. Chaussé) laquelle est également rare. Mais ce sont surtout les adénopathies secondaires qui peuvent présenter cet aspect non caséeux : on voit alors des ganglions modérément hypertrophiés et dont le tissu normal est remplacé par un tissu gris rappelant celui du sarcome; il ne s'agit évidemment pas d'une tuberculose occulte puisqu'il y a des lésions visibles, mais bien d'un type particulier.

Lorsque les lésions ganglionnaires tuberculeuses sont anciennes, la fonte par ramollissement entre la substance caséeuse et le tissu vivant peut y être observée; il se constitue de véritables abcès froids contenant des concrétions caséeuses primitives et une sorte de suppuration bacillaire; ces abcès finissent par s'ouvrir à l'extérieur en laissant des trajets fistuleux plus ou moins persistants.

Le tissu ganglionnaire est de bonne heure totalement détruit par la fonte purulente et on voit que les tubercules se développent dans le tissu conjonctif voisin devenu fibreux et même dans les tissus glandulaire et musculaire envahis par continuité.

Quel que soit le cas, la matière caséeuse du porc et le pus des adénites sont de couleur blanc grisâtre ou verdâtre. Histologiquement nous avons constaté que toujours, chez le porc comme chez les autres animaux, cette substance contient des granulations graisseuses émulsionnées auxquelles elle doit son opacité. De plus, nous savons que le tissu caséeux, de même que le pus, rappelle la couleur de la graisse physiologique de l'espèce ou de l'individu considéré ; c'est ainsi que, chez le porc et le veau, dont la graisse est blanche, la substance caséeuse est blanche, un peu grisâtre, tandis que, chez le bœuf et surtout chez la vache, elle est plus ou moins jaune.

D'autre part, la substance caséeuse du porc, comme celle du veau et du bœuf dans les tuberculoses hypertrophiantes, est souvent piquetée de points hémorragiques dus à des obstructions vasculaires, avec zones congestives, réalisées au moment de la mortification.

L'adénopathie primitive, avons-nous dit, intéresse presque toujours exclusivement les ganglions maxillaires; très exceptionnellement elle débute par les ganglions rétro-pharyngiens. Lorsque l'affection est déjà ancienne, c'est-à-dire lorsqu'elle date de trois à quatre mois au moins, les premières lésions se sont propagées plus ou moins aux ganglions parotidiens, rétro-pharyngiens et trachéaux. Presque toujours, du moins chez les porcs de huit mois environ, qui ne présentent pas de lésions massives, les ganglions prépectoraux et préscapulaires sont indemnes ; on sait que ces derniers ganglions correspondent au groupe sus-claviculaire de l'homme, ce qui offre un certain intérêt pour la discussion de la pathogénie. Mais la généralisation est faite, à un degré variable, quelques mois après l'infection ; nous en décrirons l'aspect et en déduirons le mécanisme après avoir recherché plus exactement quelle est la porte d'entrée du virus.

II. *Lésions amygdaliennes.* — Si l'on accepte avec nous que

l'infection tuberculeuse obéit à des règles précises et simples, l'adénopathie des ganglions sous-maxillaires indique que le point de pénétration du contage se trouve dans la bouche, le nez ou le pharynx; elle indique même que ce point de pénétration est plutôt buccal que nasal ou pharyngien. Il est aisé de se convaincre qu'il en est bien ainsi; ce point de pénétration se trouve à la partie inférieure et postérieure de la voûte palatine, dans les amygdales staphylines, constatation qui a déjà été faite par divers auteurs, notamment par Ströse (1897), Mendoza (1906), Mohler et Wasburn (1908). Lorsqu'un seul ganglion sous-maxillaire est caséeux on peut se rendre compte également que la lésion amygdalienne correspond à ce ganglion malade.

Cependant il faut ajouter ici un correctif : les lésions de l'amygdale ne sont pas toujours évidentes, surtout si la maladie est implantée depuis peu; leur reconnaissance peut être difficile et exiger au besoin l'examen microscopique d'un point suspect si l'on veut être rigoureux. Voici les caractères qui permettent de reconnaître les localisations des amygdales (1).

A la surface de l'amygdale on remarque tantôt des élevures (fig. 2) larges de 2 à 3 millimètres, en forme de segment de sphère dont le sommet est percé d'un orifice souvent dilaté; cet orifice est simplement une crypte de l'organe lymphatique. Tantôt on note l'existence de cryptes fortement dilatées (fig. 3) coïncidant avec une tuméfaction plus ou moins diffuse des follicules lymphatiques sous-jacents; dans ces cryptes on découvre communément des débris de graminées (glumelles et glumellules) qui blessent les tissus et favorisent à coup sûr la pénétration du bacille tuberculeux ou de tout autre germe

(1) Qu'on nous permette de remarquer ici que les *amygdales gutturales* (Renaut), appelées par quelques auteurs (Poirier, Jonnesco et Charpy) *palatines*, chez l'homme, ne sont pas réellement palatines, puisqu'elles ne sont pas situées au palais mais entre les piliers du voile du palais; elles ne sont pas non plus gutturales (de *guttur* : gosier, pharynx); elles sont en réalité *isthmiques* puisqu'elles sont au niveau de l'isthme, entre la bouche et le pharynx. Les amygdales du porc méritent au contraire le nom de *palatines* ou de *staphylines*, car elles occupent la partie postérieure de la voûte buccale; les amas folliculaires sont séparés en deux moitiés symétriques par une sorte de raphé médian facile à reconnaître sur la fig. 2, et ils se prolongent sur la face antérieure du voile du palais lequel est très développé dans cette espèce.



Fig. 2. — *Photographie des amygdales palatines, dans un cas de tuberculose du porc.*

Ces amygdales sont vues par leur face buccale. V, voile du palais; R, raphé médian séparant les deux amygdales; T, tubercule intra-amygdalien produisant un petit soulèvement hémisphérique. Les cryptes amygdaliennes se montrent sous l'aspect de points noirs assez régulièrement espacés.

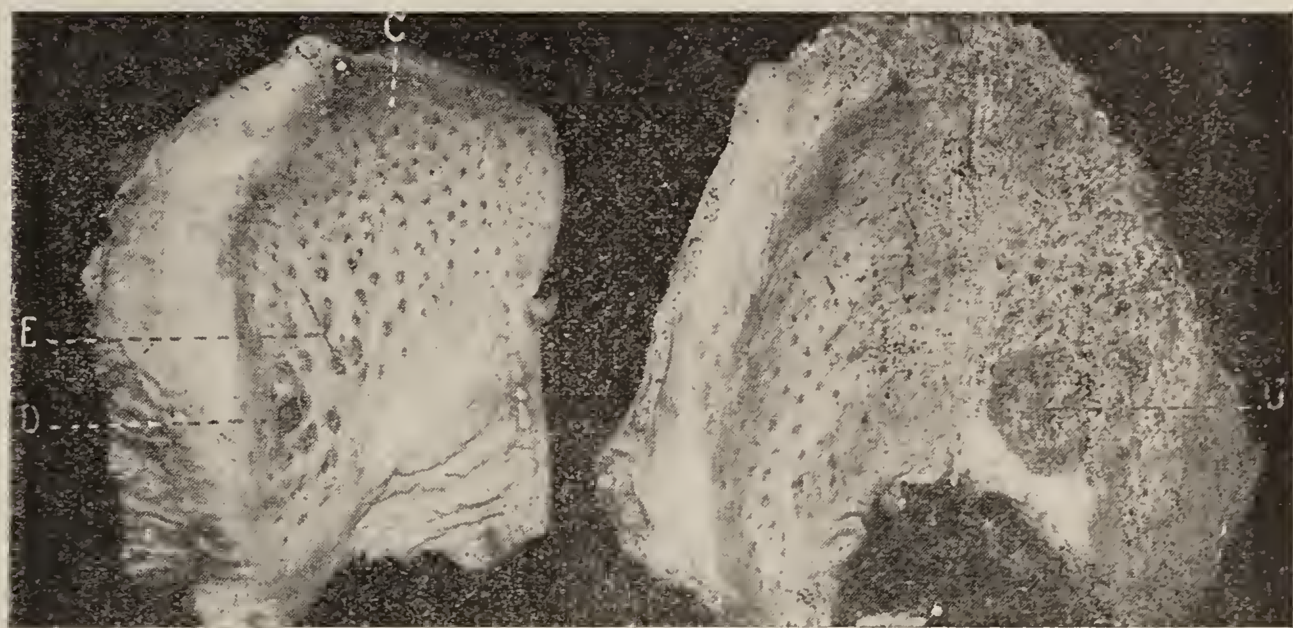


Fig. 3. — *Photographie de deux amygdales tuberculeuses du porc.*

I, amygdale droite montrant, en C, des cryptes normales, en D, une crypte fortement dilatée sur une lésion tuberculeuse, en E, une crypte contenant une tige noire qui est une glumelle de graminée.

II, deux amygdales dont la gauche présente, en U, un ulcère caséeux partiellement cicatrisé.

morbide. Tantôt il existe des ulcérations véritables (fig. 3), parfois en voie de cicatrisation ; il est manifeste que, dans ce dernier cas, la destruction de l'organe à ce niveau en témoigne, une partie du tissu tuberculeux a été expulsée et qu'une ébauche de réparation se poursuit. Ce processus cicatriciel est plus apparent sur la figure 4 qui montre des amygdales à surface déchiquetée, vasculaire, mais non ulcérées, l'épithélium buccal ayant recouvert imparfaitement les lésions premières.

Enfin, ce que l'on voit le plus souvent au début, lorsque



Fig. 4. — *Autres photographies d'amygdales anciennement tuberculeuses.*

La surface de ces organes est complètement labourée par l'élimination de parties caséeuses ; la réparation cicatricielle est imparfaite ; sur la figure de droite chaque amygdale porte les vestiges d'une large ulcération irrégulière, maintenant cicatrisée en partie.

l'infection est de faible intensité, c'est une simple rougeur d'une partie de la muqueuse amygdalienne qui est normalement blanche sur le cadavre ; dans cette seule zone colorée, tuméfiée ou non, transparaissent des filets vasculaires superficiels qui indiquent l'existence d'un foyer inflammatoire localisé. Si l'infection est intense, ce qui est rare, l'amygdale est toujours congestionnée et vascularisée dans tout ou partie de son étendue ; on y aperçoit par transparence des tubercules caséeux et d'autres ulcérés, et le toucher en fait reconnaître également quelques-uns à la face profonde de l'organe lymphatique.

L'amygdale doit, en effet, être examinée aussi par sa face profonde; pour cela on la détache au couteau, en rasant la voûte palatine et le voile du palais; on la palpe des deux côtés. On y trouve en général, au début, un point épaissi correspondant à la région vascularisée et saillant à la surface; plus tard, il est de règle d'y découvrir, accolés intimement à sa face profonde et faisant corps avec elle, des tubercules caséeux gros comme des grains de millet, ou comme des grains de chènevis; dans ce cas la nature tuberculeuse des lésions amygdaliennes ne fait plus aucun doute.

Nous avons fait l'étude microscopique des lésions amygdaliennes. Étant donné l'intérêt pathogénique qu'elles présentent nous les décrirons un peu longuement; qu'on nous permette d'abord de schématiser en quelques mots la structure de l'amygdale du porc.

Cette amygdale est une sorte de ganglion lymphatique composé par l'association de parties semblables, plus petites, que nous appellerons *ganglions élémentaires*. Ces derniers sont au nombre de 200 environ de chaque côté de la ligne médiane, soit 400 pour les deux amygdales staphylines. Ces organes sont recouverts par la muqueuse buccale qui s'invagine perpendiculairement à la surface et au centre de chaque ganglion élémentaire; l'épithélium invaginé constitue un conduit ramifié latéralement dans la substance du ganglion élémentaire; les orifices buccaux de ces conduits sont les cryptes visibles à l'œil nu sur les figures 2, 3 et 4 (Voir le schéma, fig. 5).

Chaque ganglion élémentaire a une forme en doigt de gant et se trouve disposé perpendiculairement à la muqueuse; le centre, avons-nous dit, est occupé par le conduit épithélial ramifié; le diamètre de chaque ganglion élémentaire est de 1,5 millim. à 4 millimètres environ. Le pourtour est occupé par de nombreux follicules lymphatiques larges de 150 à 400 microns, selon leur plan de section, et dont on aperçoit les centres clairs sur le schéma et sur les coupes (fig. 5, 6, 7, 9, 10 et 11); les follicules sont rangés en une couche simple, à une petite distance de la paroi ou enveloppe ganglionnaire. Tous les espaces compris entre la limite externe du ganglion élémentaire et les tubes épithéliaux, déduction faite des follicules, sont occupés par du tissu réticulé dont les mailles sont bourrées de

cellules blanches; les follicules ont eux-mêmes la structure de ceux des autres ganglions de l'économie.

Les canaux épithéliaux ont un épithélium stratifié pavimenteux semblable à celui de la cavité buccale mais moins épais.

Le ganglion élémentaire est entouré par du tissu fibro-vasculaire en continuité avec le tissu sous-amygdalien dans lequel on trouve, à la périphérie de l'amygdale surtout, des glandes acineuses mixtes.

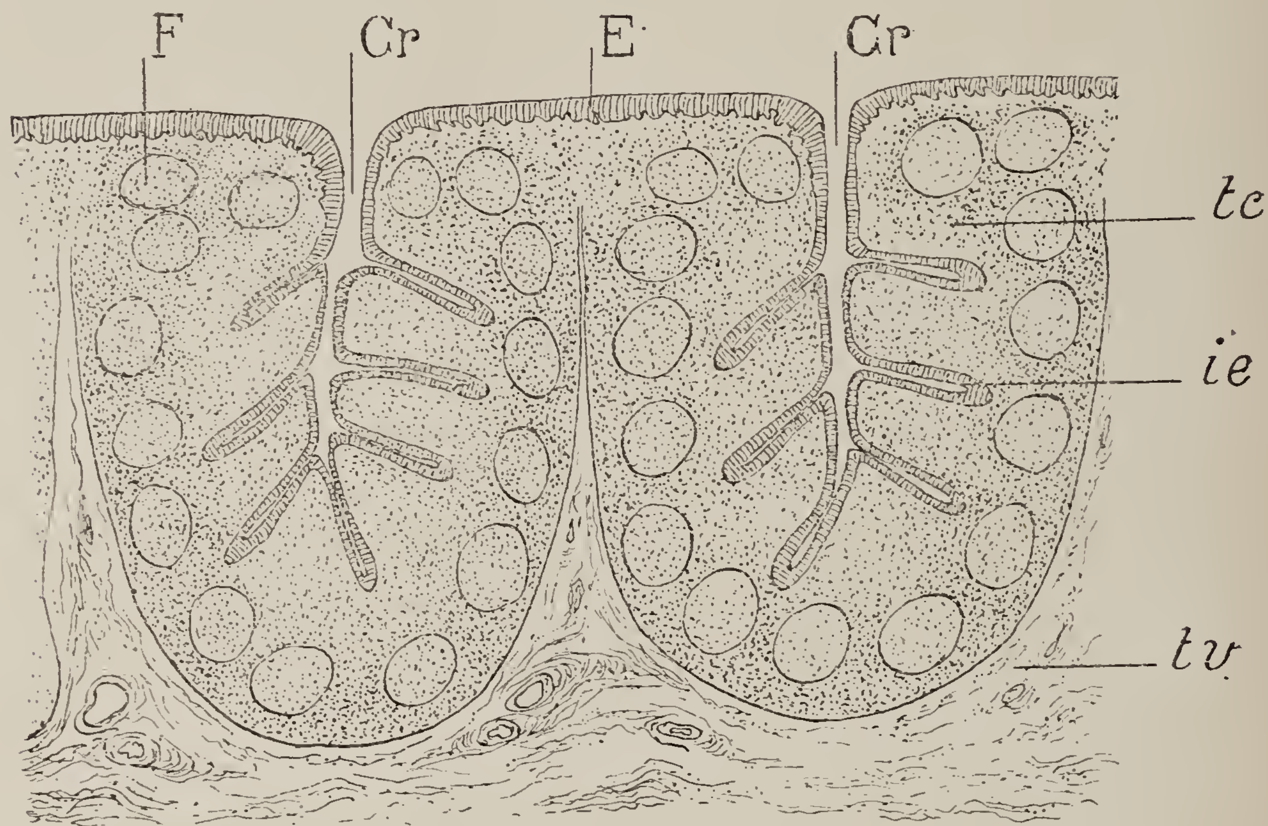


Fig. 5. — *Schéma de l'amygdale palatine du porc.*

E, épithélium buccal du type stratifié pavimenteux ; Cr, invagination de cet épithélium, ou crypte, au centre de chaque ganglion élémentaire; sur la figure il y a deux de ces ganglions; *ie*, prolongements épithéliaux ramifiés, en continuité avec l'épithélium buccal de même type ; F, follicule à centre clair; *tc*, tissu caverneux renfermant dans ses mailles des cellules lymphatiques; *tv*, tissu conjonctivo-vasculaire.

Il faut mentionner enfin que certains ganglions élémentaires voisins sont fusionnés entre eux; leur structure rentre néanmoins dans le schéma précédent.

Le rôle physiologique des amygdales n'est pas entièrement connu; il est admis que les leucocytes du tissu lymphatique émigrent à travers l'épithélium et sont rejetés dans la cavité buccale où ils se mélangent au mucus; il est vraisemblable que ces cellules et ces organes ont un rôle de défense à remplir continuellement à l'égard des divers germes des voies digestives et c'est pourquoi sans doute de nombreuses infections se

localisent à leur niveau. Par suite de leur desquamation les cellules épithéliales des digitations internes constituent, avec les leucocytes et les microbes, une sorte de détritus d'aspect caséeux à l'œil nu.



Fig. 6. — *Coupe d'une amygdale tuberculeuse perpendiculairement à la surface.*

ep, épithélium stratifié pavimenteux; Cr, crypte ; *e*, invaginations épithéliales; *f*, follicule; E, tissu épithélioïde; *cr*, centre de chromatolyse; T, tubercule. Grossissement : environ 10 diamètres.

Dans les cryptes et conduits, des germes pathogènes, tels que le bacille de Koch, peuvent être apportés avec des aliments et peuvent probablement cultiver. Par suite de son pouvoir toxique ou nécrosant, ou à la faveur d'un traumatisme qui se

trouve ici fréquemment réalisé, le bacille tuberculeux pénètre dans le tissu lymphatique et, à partir de ce moment, l'infection est réalisée. Tandis que le microbe se multiplie le tissu environnant, touché par les poisons bacillaires, subit la transformation épithélioïde; à un faible grossissement cette dernière modification, qui n'est pas à proprement parler une métaplasie (1), est reconnaissable en ce que la teinte du tissu devient plus claire, parce que les noyaux vésiculeux des cellules épithélioïdes sont plus transparents que ceux des cellules lymphatiques normales, et, d'autre part, le corps cellulaire est plus développé (fig. 6). Des centres de chromatolyse, Cr et T, apparaissent ensuite dans le tissu épithélioïde, indiquant le début de la dégénérescence caséeuse. Les tubercules superficiels T, T, soulèvent l'épithélium buccal; plus tard ils se désagrègent et déversent leur contenu bacillaire et caséeux dans la cavité digestive, ce qui est le processus habituel de défense contre les lésions bactériennes diverses des muqueuses et des téguments.

Une coupe parallèle à la surface d'une amygdale récemment infectée (fig. 7) montre des ganglions élémentaires normaux, N, et d'autres qui renferment des tubercules à divers stades. L'un de ces tubercules, T1, est compris entre la surface épithéliale interne et la cloison conjonctivo-vasculaire; le second, T2, est plus profondément situé : il commence à envahir le tissu conjonctivo-vasculaire; enfin un troisième tubercule, T3, est complètement développé dans le tissu conjonctivo-vasculaire qui constitue la charpente de l'amygdale. C'est ainsi que se forment, par transport de quelques unités bacillaires dans les espaces conjonctifs, les tubercules sous-amygdaliens (fig. 8).

Comme dans toutes les lésions tuberculeuses superficielles, on observe dans les amygdales de porc tuberculeux des *phénomènes de régression et de cicatrisation*. L'examen à l'œil nu des amygdales représentées sur la figure 4 nous donnait à penser qu'elles étaient le siège de lésions tuberculeuses imparfaitement guéries, mais il pouvait rester quelque doute sur la nature de ces altérations; l'étude histologique nous a permis

(1) La cellule épithélioïde n'est, en effet, qu'une cellule conjonctive intermédiaire entre le lymphocyte, ou cellule embryonnaire, et la cellule conjonctive étoilée.

de comprendre exactement de quelle manière se réalise cette réparation imparfaite.

Les tubercules développés dans les amygdales sont éliminés dans le tube digestif; il y a trois étapes : 1° formation du



Fig. 7. — *Coupe d'une amygdale récemment infectée, parallèlement à la surface.*

N, ganglion élémentaire normal; *e*, invagination épithéliale; *f*, follicule; *c*, tissu conjonctivo-vasculaire; *v*, vaisseau sanguin; T1, tubercule développé dans un ganglion élémentaire; T2, tubercule analogue sortant d'un autre ganglion; T3, tubercule développé dans le tissu conjonctivo-vasculaire. Grossissement : 10 D.

tubercule et progression vers la surface; 2° élimination; 3° cicatrisation. Ceci est surtout exact pour les lésions qui ont un siège superficiel dès le début. L'élimination des tubercules profonds est évidemment plus difficile; elle ne peut avoir lieu

qu'après la chute d'une partie des tissus qui les recouvrent.

La figure 9 montre deux tubercules développés dans le tissu conjonctivo-vasculaire ; l'un d'eux, T1, comprimé, d'une part, entre les ganglions élémentaires, d'autre part, par le tissu fibreux sous-amygdalien, lequel est en continuité avec le périoste palatin, se déplace visiblement vers la surface ; le déve-

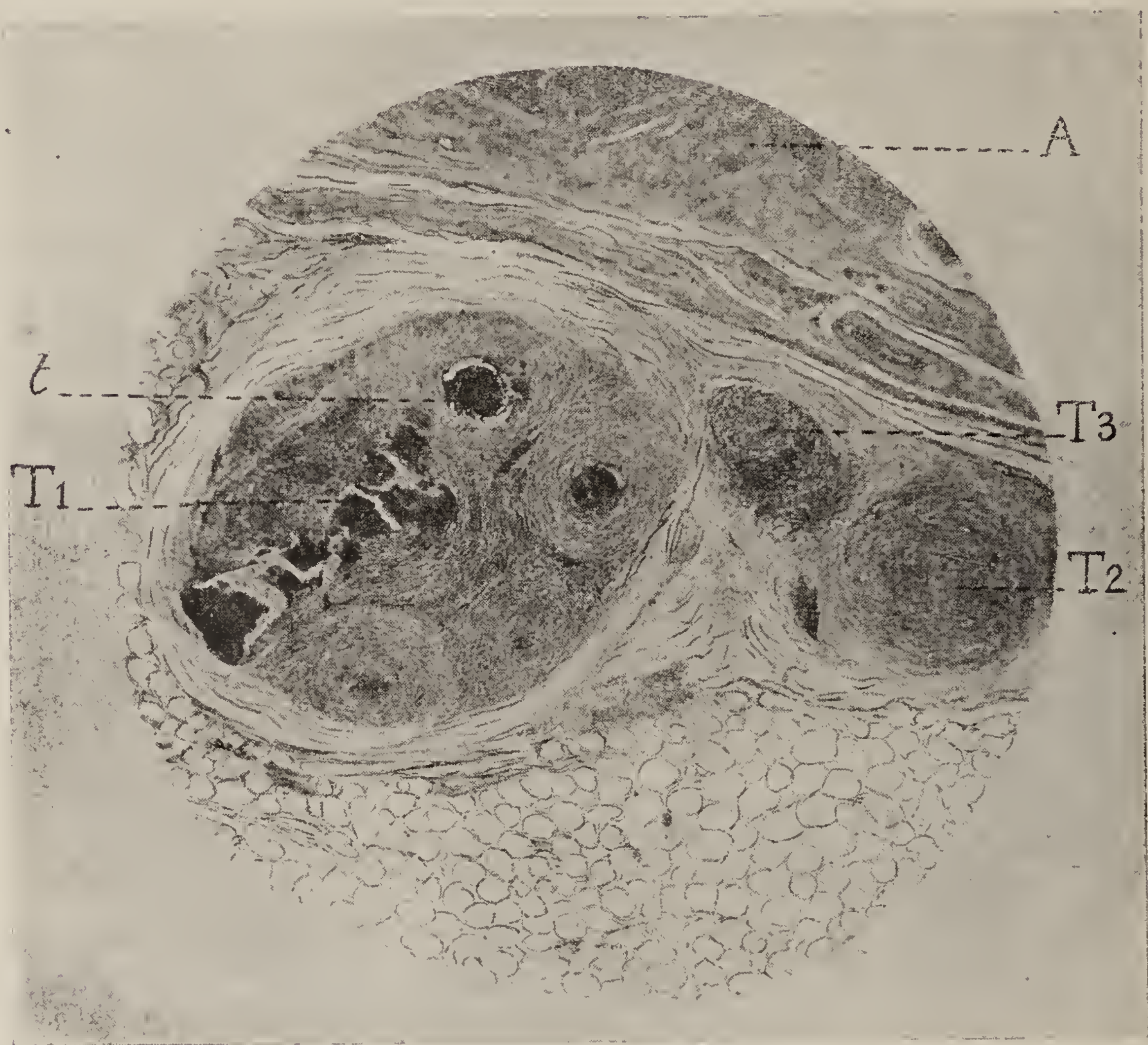


Fig. 8. — *Microphotographie de quelques tubercules sous-amygdaliens.*

A, amygdale; T1, gros tubercule caséo-calcaire, composé lui-même de plusieurs petits tubercules, *t*, très nettement dessinés; T2 et T3, autres tubercules à un stade moins avancé. Grossissement : environ 10 D.

loppement même de cette lésion la rapproche de l'épithélium, mais, en outre, on remarque l'aplatissement latéral de sa circonférence et la faible épaisseur de son enveloppe fibreuse du côté de la moindre résistance.

L'évulsion des tubercules est prise sur le fait, sur la figure 10, où l'un d'eux, T1, a rompu le revêtement épithélial et montre son tissu en contact avec la cavité digestive.

Par suite du développement des tubercules et de leur élimi-



Fig. 9. — *Microphotographie montrant un tubercule intra-amygdalien* T1, *en progression vers la surface épithéliale* E.

Cr, crypte amygdalienne; F, follicule lymphatique, Même grossissement que la figure 8.



Fig. 10. — *Microphotographie montrant un tubercule* T1, *qui se déverse dans la cavité digestive.*

E, épithélium; B, bourgeon charnu cicatriciel; F, follicule lymphatique; Tf, tubercule fibreux. Même grossissement.

nation la structure des amygdales est profondément altérée ; le tissu lymphatique est rejeté en partie, avec les lésions, et il ne se reconstitue pas. L'épithélium et la couche lymphatique superficielle se réparent irrégulièrement en donnant maints bourgeons, parfois pédiculés, visibles au simple examen macroscopique (fig. 4) et que montrent aussi les microphotographies (fig. 10 et fig. 11) ; cependant l'épithélium prolifère et arrive à

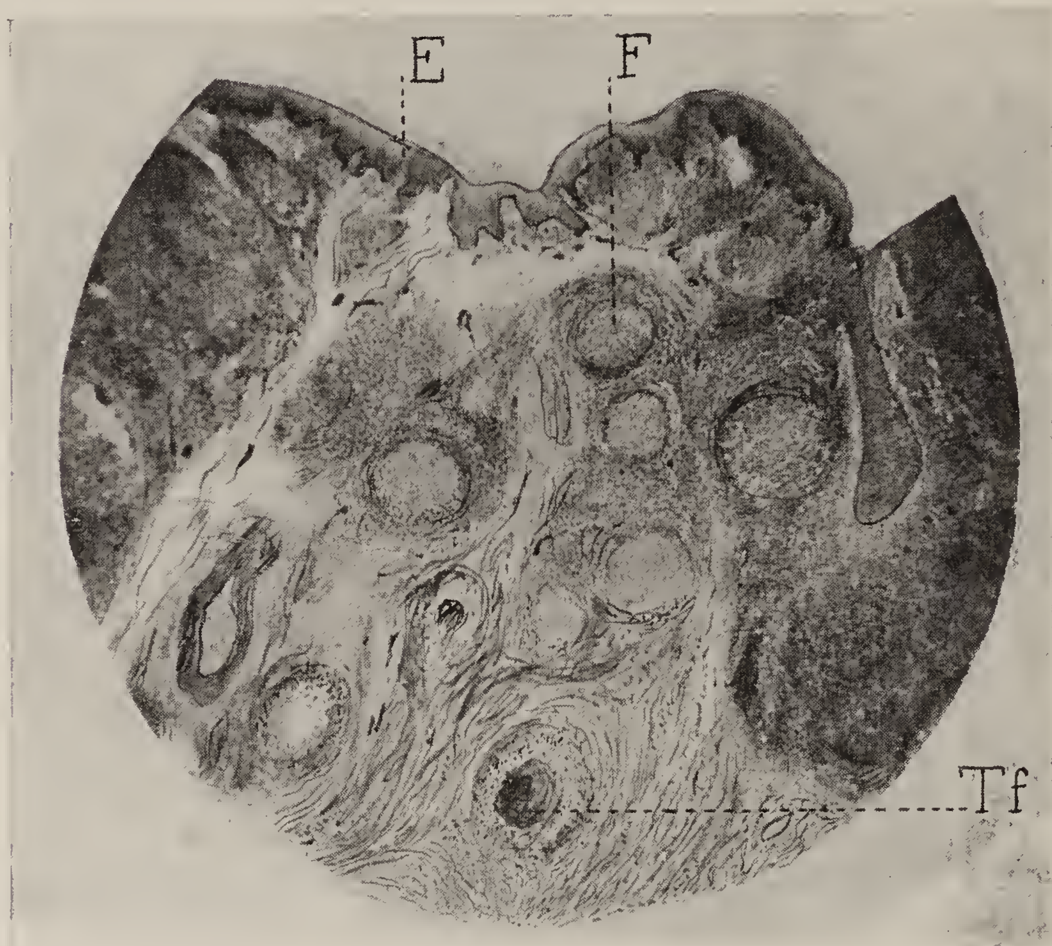


Fig. 11. — *Microphotographie montrant le remaniement de la structure de l'amygdale par le développement et l'élimination des tubercules.*

La surface épithéliale est bosselée ; les follicules lymphatiques sont épars et séparés par des travées fibreuses, au lieu d'être régulièrement groupés ; E, épithélium ; F, follicule ; Tf, tubercule fibreux. Même grossissement.

recouvrir les surfaces primitivement ulcérées. Les ganglions élémentaires sont remaniés par le développement et l'évulsion des tubercules ; des travées fibreuses persistent là où les lésions spécifiques ont existé et elles écartent les follicules lymphatiques. Enfin, on note la persistance de tubercules fibreux ou fibro-caséeux à évolution extrêmement lente. Il serait superflu de multiplier davantage les dessins pour montrer d'autres aspects des lésions amygdaliennes ; chaque dessin

nouveau se rattacherait à l'un ou l'autre de ceux qui précèdent.

Ce sont là, incontestablement, des phénomènes régressifs qu'il faut rapprocher de la cicatrisation des ulcères tuberculeux de l'intestin étudiée par nous dans l'espèce bovine (*Annales de l'Institut Pasteur*, septembre-octobre 1909). Étant donnée l'épaisseur de l'amygdale la cicatrisation parfaite ne semble pas possible ; l'organe est éliminé en grande partie avec les tubercules qu'il contient ; son épaisseur se réduit au tiers en certaines régions, mais il reste des vestiges de l'infection sous la forme de quelques tubercules fibreux épars dans le tissu lymphatique, ou de tubercules sous-amygdaliens plus ou moins caséifiés. L'élimination de ces derniers apparaît impossible à cause de leur situation profonde. L'intestin nous a montré, il est vrai, une cicatrisation parfaite en apparence, à l'œil nu, mais, sous la cicatrice, nous découvrîmes au microscope des cellules géantes et des bacilles ; cependant l'intestin, plus friable, plus souple, plus mince, moins fibreux que les amygdales, est dans de meilleures conditions pour réparer ses lésions bacillaires.

Les bacilles sont extrêmement rares dans les lésions tuberculeuses du porc ; il faut faire des examens prolongés pour en découvrir quelques unités ; les cellules géantes sont elles-mêmes souvent peu nombreuses, surtout dans les tubercules fibro-caséeux anciens.

De ces lésions amygdaliennes, ce qu'il importe avant tout de retenir c'est leur signification pathogénique : elles sont la première étape de l'infection, mais non la plus apparente. Afin de simplifier il faut rattacher à cette première étape la localisation ganglionnaire qui lui correspond directement et qui est plus visible. L'hypertrophie ganglionnaire habituelle tient à ce que le tissu lymphatique est plus apte à la culture, ce qui s'observe également pour les autres régions de l'organisme et pour la plupart des cas de tuberculose bovine. Les lésions amygdaliennes et ganglionnaires évoluent à peu près simultanément. La seconde étape est celle de la généralisation dont nous allons essayer de comprendre le mécanisme.

III. *Généralisation.* — L'examen attentif de nombreux sujets nous a donné la certitude qu'entre les ganglions maxillaires et le confluent veineux aucun filtre n'est interposé; nous ne saurions donc accepter l'opinion exprimée par Ströse et divers auteurs, qui supposent que le virus va des ganglions cervicaux aux ganglions pulmonaires, et de ces derniers aux poumons, opinion qui, au surplus, est contraire à la physiologie !

En effet la généralisation s'observe tandis que, seuls, les ganglions maxillaires sont hypertrophiés et caséeux, les ganglions parotidiens, rétro-pharyngiens, trachéaux, prépectoraux, préscapulaires et pulmonaires étant indemnes; ce sont seulement les lésions prononcées des amygdales et des ganglions maxillaires correspondants qui retentissent sur les ganglions voisins du cou, avec lesquels il existe sans doute des rapports de suppléance lors de la destruction des premiers. Il y a donc des vaisseaux lymphatiques qui vont directement des ganglions maxillaires dans les troncs antérieurs et, par là, dans la circulation veineuse. Les altérations des ganglions pulmonaires se montrent, elles-mêmes, absolument subordonnées à celles du poumon et se produisent avec un léger retard sur celles-ci, ce qu'il est possible d'apprécier lorsque l'infection est récente.

Outre les faits d'observation, nous pourrions faire valoir de nombreux faits expérimentaux pour démontrer que *l'hypothèse de la relation des ganglions cervicaux et pulmonaires est erronée, non seulement chez le porc mais dans toutes les espèces*; cette discussion nous écarterait trop de notre sujet actuel.

La connaissance des signes de la généralisation doit être la base de l'inspection en matière de tuberculose porcine ou bovine. Malheureusement, c'est surtout dans la tuberculose, et pour le point particulier qui nous occupe, que l'on peut dire « la nature ne fait pas de bonds » : dans la pratique, le moment où la généralisation existe ne peut être apprécié rigoureusement; toutefois on peut arriver, à notre avis, à une approximation satisfaisante.

Chez le porc, la généralisation est plus facile à définir et à reconnaître que chez le bœuf, parce que le premier animal, étant plus réceptif, réagit mieux à l'égard de l'infection sanguine; mais elle se présente à tous les degrés possibles. Nous allons tenter d'en faire connaître les caractères, en commen-

çant par les formes qui résultent de la bacillémie la plus discrète et la plus récente.

Dans la *généralisation récente et à un très faible degré* (nous conviendrons qu'il s'agit là du premier degré de la bacillémie), outre les lésions cervicales ci-dessus décrites, la palpation du poumon permet de déceler un nombre variable, mais généralement faible, de tubercules disséminés ayant environ 1 à 2 millimètres de diamètre et qui donnent au toucher la sensation de grains de plomb ou de millet enchâssés dans le parenchyme respiratoire. Ces tubercules présentent une petite zone congestive périphérique, tandis qu'au centre ils sont gris ou caséeux selon leur âge. Par rapport au poumon et au lobule leur siège est indifférent, c'est-à-dire qu'il est intrapulmonaire ou sous-pleural, intralobulaire ou périlobulaire; il n'y a aucune prédilection pour l'un ou l'autre des lobes pulmonaires. L'infection sanguine étant ici récente (30 à 40 jours environ), les ganglions pulmonaires sont parfois indemnes parce que le parenchyme est touché en premier lieu ; si les ganglions sont lésés, leurs altérations consistent en une légère induration avec hypertrophie et caséification peu marquées.

Le foie, la rate, et les autres organes ou tissus, ainsi que les ganglions hépatiques, sont généralement sains.

Dans la rate les tubercules sont toujours moins nombreux que dans le poumon et on a peu de chances d'en rencontrer, sinon parfois quelques unités à peine visibles, cet organe étant granuleux et ponctué par la présence des corpuscules de Malpighi. Dans le foie, un très faible nombre de tubercules récents seront difficilement découverts, et les ganglions de l'organe, parce que l'infection est récente, ne seront pas encore caséifiés. Enfin dans les autres tissus de l'économie, il est encore plus malaisé, et il est même impossible de reconnaître des lésions correspondant à une bacillémie aussi légère et récente.

L'observation et l'étude expérimentale démontrent que, lorsque la bacillémie se réalise, le poumon ne retient qu'une partie des bacilles ; une autre partie le traverse et se répand dans la circulation générale ; tous les tissus sont donc simultanément touchés et, si des lésions n'y sont pas visibles, ces tissus sont tout au moins suspects. Chez le porc, en dehors des rares cas d'infection par inhalation, la généralisation existe donc

dès que l'on trouve des tubercules pulmonaires, quel qu'en soit le nombre, et même en l'absence de lésions du foie, de la rate et des autres tissus : telle est la définition rigoureuse de la généralisation. Mais encore, avant que des tubercules pulmonaires soient apparents à l'œil nu, on peut toujours penser qu'ils sont en formation, la bacillémie pouvant dater de moins de vingt jours, délai minimum approximatif pour que les tubercules soient visibles.

A un *second degré* nous considérons que la généralisation est un peu plus ancienne (50 à 60 jours environ), les tubercules pulmonaires un peu plus avancés dans leur développement et les adénopathies caséeuses correspondantes constituées. Les tubercules pulmonaires, toujours en nombre variable, mais généralement restreint, auront de 2 à 3 millimètres environ; ils présenteront une zone congestive périphérique et un point caséeux central; leur siège est nécessairement le même. Les ganglions pulmonaires sont légèrement indurés, hypertrophiés, et ils se montrent partiellement caséeux sur la coupe. Tantôt la rate et le foie sont indemnes, tantôt ils sont lésés, mais les tubercules qu'ils présentent sont toujours plus rares que ceux du poumon. En examinant la rate sur toutes les faces, on découvrira parfois un, deux, dix, vingt tubercules au même stade que ceux du poumon. Le foie contiendra alors quelques granulations blanchâtres de mêmes dimensions et ses ganglions seront également caséeux, le plus souvent au même degré que ceux du poumon.

Comme les bacillémies sont des phénomènes à répétition, à intervalles et à doses extrêmement variables, la généralisation au second degré pourra être associée à celle que nous avons appelée généralisation au premier degré, c'est-à-dire que l'on trouvera alors dans les trois organes, poumon, foie et rate, des tubercules plus jeunes appartenant au premier stade ou mixtes. Les tissus périphériques et les ganglions intramusculaires ne présentent ordinairement aucune lésion visible et les reins sont indemnes. Si l'on fait pratiquer la fente de la colonne vertébrale, pour en examiner le tissu spongieux, on ne découvre ordinairement aucun tubercule.

L'existence ou l'absence des lésions spléniques et hépatiques, ainsi que le nombre de ces lésions, sont commandés par l'in-

tensité de la bacillémie ou des bacillémies successives : si l'infection a été faible, le poumon seul sera généralement atteint ; dans les autres cas, la rate et le foie auront un nombre de tubercules d'autant plus fort que le poumon sera plus abondamment ensemencé.

Une partie des tubercules sont visibles immédiatement, parce



Fig. 12. — *Photographie de la surface pleurale, grandeur naturelle, dans un cas de généralisation intense au second degré.*

Sur ce dessin, une trentaine de tubercules sont visibles pour une faible étendue du poumon, ce qui correspond à environ 2.000 à 3.000 tubercules pour tout l'organe. Il convient de remarquer l'inégalité de ces tubercules, laquelle indique que les lésions sont dues à plusieurs inondations sanguines. T, tubercule.

qu'ils siègent sous la plèvre pulmonaire. La figure 12 montre bien quel est l'aspect du poumon dans un cas de généralisation prononcée. Le foie et la rate présentent des tubercules approximativement au même stade (fig. 13). Il suffira de regarder les figures 12 et 13 pour se rendre compte de ce que nous entendons par généralisation tuberculeuse au second degré.

A un *troisième degré* nous admettrons que les lésions tuberculeuses métastatiques sont encore notablement plus anciennes

(trois à quatre mois environ) et plus nombreuses que précédemment ; outre ces lésions anciennes, il y en aura parfois de



Fig. 13. — *Photographie d'un fragment de foie et d'un fragment de rate dans un cas de généralisation intense au second degré.*

Il s'agit du même sujet que sur la fig. 12; dans chacun de ces trois organes (poumon, foie, rate), les tubercules sont sensiblement au même état de développement. T, tubercule.

plus récentes. Pour fixer les idées, nous dirons que les tubercules les plus anciens auront de 5 à 10 millimètres et présenteront une caséification centrale marquée. Toutes les lésions plus

récentes sont identiques à celles que nous venons de décrire pour la tuberculose au deuxième degré. Les tubercules pulmonaires sont, comme toujours, assez régulièrement disséminés, et, parmi eux, les plus gros tendent à prendre le type broncho-pneumonique par suite de l'extension périphérique de l'infection aux alvéoles et bronchioles. On remarquera d'autre part des tubercules lymphatiques interlobulaires et sous-pleuraux, de forme sphérique. Les ganglions pulmonaires seront assez fortement hypertrophiés et caséeux.

Le *foie* contiendra toujours un nombre analogue de tubercules de divers âges, uniformément disséminés dans tout le parenchyme, faciles à distinguer parce qu'ils sont blancs sur fond marron. Les ganglions hépatiques seront dans un état semblable à celui des ganglions pulmonaires.

La *rate* contiendra également toujours une quantité variable de tubercules à peu près au même état de développement que ceux des organes ci-dessus.

Les *reins* seront le plus souvent indemnes. Chez le porc ces organes se montrent particulièrement résistants à l'égard de l'infection tuberculeuse.

L'examen de la *moelle osseuse*, sur une coupe sagittale de la colonne vertébrale, montre assez fréquemment des îlots tuberculeux formés d'un tissu grisâtre, sarcomateux ; ces îlots, larges de 3 à 10 millimètres, se rencontrent soit dans les corps vertébraux, soit dans les apophyses épineuses.

Enfin une partie des ganglions sous-lombaires et des ganglions dits musculaires pourront contenir des foyers caséeux d'âge correspondant aux lésions pulmonaires.

On doit ici se demander si les tubercules ganglionnaires périphériques sont en rapport avec des localisations musculaires ou osseuses; nous avons recherché maintes fois les lésions musculaires supposées sans les découvrir. D'autre part, un auteur allemand déjà cité, Haffner (*Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1907-1908, page 7), a constaté que la tuberculose osseuse des membres se rencontre en l'absence d'altérations correspondantes des ganglions; il faut comprendre, pensons-nous, que le retentissement des lésions osseuses sur les ganglions n'est pas immédiat. Il est possible aussi qu'une infection musculaire ne se traduise pas par des

lésions visibles de ce tissu très résistant, bien que cependant les voies lymphatiques conduisant aux ganglions aient reçu des bacilles. Enfin les ganglions peuvent être atteints directement, par voie sanguine, au moment de la bacillémie.

Il convient donc de donner aux localisations ganglionnaires périphériques la même signification qu'aux tubercules pulmonaires hépatiques ou spléniques; elles traduisent la généralisation, quelle que soit l'étape intermédiaire entre le sang et le ganglion, et elles contribuent à en indiquer l'intensité et l'ancienneté.

Nous distinguerons enfin un *quatrième degré* de la généralisation, lequel peut correspondre à une bacillémie initiale datant de six mois ou même davantage, et à des bacillémies répétées, plus récentes, en nombre variable. La progression des tubercules résultant de ces diverses infections sanguines est continue. Les premiers ont donné de gros nodules de type hypertrophiant ou sarcomateux, le plus souvent caséeux au centre, larges de 15 à 30 millimètres environ; les altérations ganglionnaires qui sont la conséquence de ces derniers tubercules sont volumineuses en général, sans tubercules distincts. Sur la coupe du poumon (fig. 14) on voit de nombreux tubercules sphériques, avec une enveloppe fibreuse; ils sont tantôt sous-pleuraux, tantôt intraparenchymateux, tantôt au voisinage immédiat et au contact des bronches les plus importantes. Il existe parfois aussi quelques lésions broncho-pneumoniques, pyramidales, souvent à base pleurale; toutefois la majorité des lésions pulmonaires, en raison de leur origine sanguine, conserve la forme sphérique.

Les premiers tubercules de généralisation et les adénoathies secondaires qui leur correspondent peuvent eux-mêmes donner lieu à de nouvelles émissions bacillaires dans la circulation; le nombre et le développement de ces divers tubercules métastatiques sont en relation avec l'intensité et l'ancienneté des inondations sanguines qui en ont été la cause.

La répartition générale de tous ces tubercules est évidemment la même que celle indiquée pour la généralisation récente, puisque l'aboutissant de toutes les voies lymphatiques est le confluent veineux. Le poumon est atteint au



Fig. 14. — *Photographie de 3 coupes du lobe basal du poumon dans la tuberculose porcine au 4e degré* (*grandeur* 1/2).

T, tubercules caséeux disséminés, sphériques, parfois bourgeonnants dont on aperçoit l'enveloppe fibreuse ; Br, bronche principale.

maximum; le foie est à peu près dans le même état; il présente souvent un nombre considérable de tubercules sarcoma-



Fig. 15. — *Foie de porc dans la tuberculose généralisée ancienne, vu sur la surface et sur la coupe* (réduction 1/2).

teux de 5 à 15 millimètres de largeur, confluents en de nombreux points, et entre lesquels on distingue, en outre, des nodules plus petits, de 1 à 2 millimètres. Entre ces lésions innombrables le parenchyme hépatique est ordinairement un



Fig. 16. — *Rate du porc dans la tuberculose généralisée ancienne.*

L'organe a été coupé transversalement en deux fragments. On voit de nombreux tubercules inégaux, de type sarcomateux. (Grandeur réelle.)

peu décoloré, par suite de dégénérescence graisseuse (fig. 15). Les ganglions hépatiques sont fortement hypertrophiés et caséeux. La *rate* contient des tubercules inégaux dont quelques-uns ont le volume d'une noisette ou d'une noix (fig. 16).

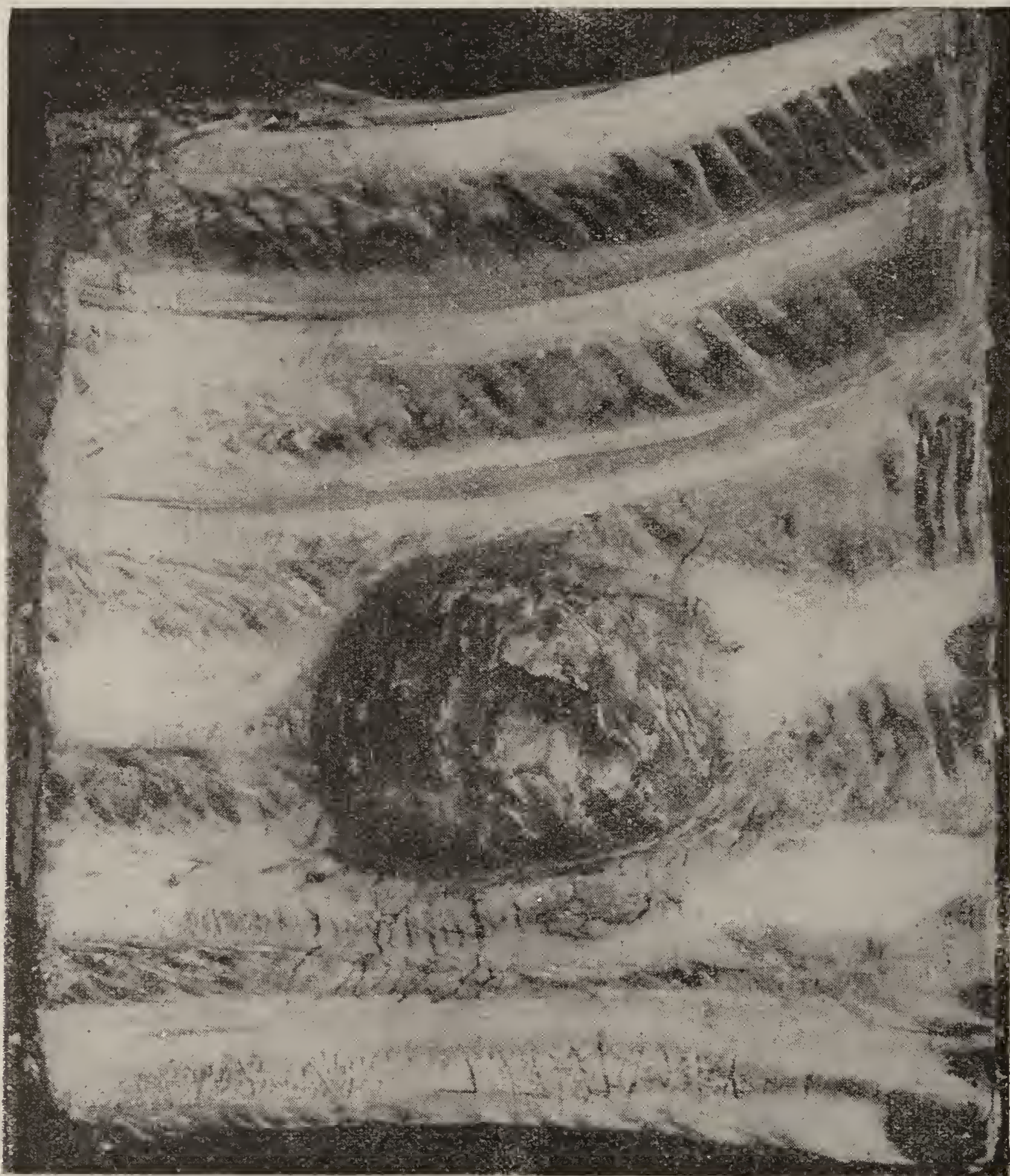


Fig. 17. — *Foyer tuberculeux siégeant vers le milieu d'une côte (grandeur 1/2).*

La pleurésie et la péritonite tuberculeuses ne s'observent guère avant cette période ; c'est pourquoi il n'en a pas été question jusqu'ici. Les altérations des séreuses consistent en des granulations caséeuses disséminées entre les anses intestinales et les viscères qui, souvent, sont réunis par des adhérences, ou

en des placards de tubercules conglomérés, disposés parfois en stries dans les espaces intercostaux.

C'est à ce stade que l'on trouve à peu près constamment de la tuberculose osseuse siégeant surtout dans le rachis ou dans les vertèbres sternales et les côtes, plus rarement dans les os de la tête et des membres. Les lésions osseuses sont toujours grises, non caséeuses ou peu caséeuses, et tranchent sur la substance médullaire qui est rouge ; elles se composent d'un tissu mou, complètement dépourvu de sels calcaires. Ceux-ci sont en effet résorbés à mesure que les lésions tuberculeuses s'étendent circulairement.

Les ganglions inguinaux, cruraux, poplités, sous-lombaires, présentent fréquemment des lésions caséeuses. Fait remarquable, même à cette période, les reins ne montrent en général aucun tubercule visible à l'œil nu.

*
* *

IV. — Voie intestinale.

La voie intestinale est beaucoup plus rarement utilisée que la voie amygdalienne; ce fait est surprenant car la muqueuse de l'intestin est apparemment de beaucoup la plus fragile, son épithélium étant simple. En outre, les autres conditions étant supposées semblables, l'étendue de cette muqueuse par rapport à celle de l'amygdale semblerait devoir multiplier les chances de pénétration des bacilles ingérés. Cette constatation nous démontre qu'*il n'y a aucune relation entre l'absorption digestive et l'infection tuberculeuse par la même voie.*

Dans la détermination de l'infection par l'amygdale il y a donc une condition favorisante spéciale qui pourrait bien résider dans la multiplicité des traumatismes, pendant la mastication et la déglutition; nous avons déjà dit qu'il est presque constant de trouver des débris de graminées implantés dans les amygdales; l'inoculation buccale serait donc dans ce cas une inoculation véritable. Au contraire, l'intestin, par suite de sa souplesse, est difficilement lésé par les corps ingérés, car il se dérobe à toute pression interne; il n'y a pas de plan résistant sous-jacent à sa muqueuse.

Quoi qu'il en soit, on trouve cinq à dix fois plus de tuberculose d'origine amygdalienne que de tuberculose d'origine intestinale.

Lors d'infection par voie intestinale, chez le porc, nous avons recherché à diverses reprises les lésions de la muqueuse, mais nous n'avons jamais pu les découvrir; l'intestin du porc ne crée pas de lésions visibles, semble-t-il, pour des infections légères, ou bien il cicatrise rapidement celles qu'il a pu présenter. Evidemment, l'absence de lésions visibles n'autorise pas à dire qu'il n'en existe pas; le microscope lui-même serait impuissant à nous renseigner d'une manière certaine, car on ne peut débiter en coupes un intestin entier. Cependant, il y a de bonnes raisons de croire que le bacille ne peut pénétrer qu'à la faveur d'altérations épithéliales minimes et en laissant des traces plus ou moins nettes et persistantes.

Ce qui nous importe le plus, c'est qu'il existe constamment, dans cette forme de la maladie, une ou plusieurs adénopathies siégeant en des points variables de la double chaîne ganglionnaire mésentérique et le plus souvent vers l'iléon. Il ne faut pas prendre pour des adénopathies dues à l'infection intestinale celles du groupe hépato-pancréatique, lesquelles sont en rapport avec la tuberculose du foie et s'observent après la généralisation d'origine quelconque.

Les adénopathies mésentériques ne présentent aucun caractère particulier. Dans les cas récents, l'hypertrophie est légère, bien que la caséification existe; puis les ganglions augmentent de volume jusqu'au triple ou au quadruple de leur grosseur normale. On ne confondra pas l'adénopathie tuberculeuse du mésentère avec divers reliquats caséeux que l'on rencontre assez souvent dans les mêmes ganglions et qui sont dus, sans doute, à des entérites antérieures dont la cause est inconnue ; ces reliquats sont gris verdâtre, nettement délimités et ne s'accompagnent généralement pas d'hypertrophie ganglionnaire; l'adénite tuberculeuse est plus diffuse, caséeuse seulement dans les parties centrales; la région caséeuse est mal délimitée et se continue avec un tissu gris, non dégénéré, de nature tuberculeuse, et il y a toujours une hypertrophie marquée, sauf au début; mais alors les caractères précédents suffisent pour la distinction. Il peut arriver enfin que ces deux sortes de

lésions coexistent, ce qui rend le diagnostic immédiat très difficile; l'inoculation au cobaye serait l'unique moyen de différenciation.

Le nombre et l'importance des lésions mésentériques varient avec chaque cas particulier.

La généralisation se fait par la voie du canal thoracique. Interposés sur les voies lymphatiques qui conduisent de l'intestin à ce canal, les ganglions altérés profondément laissent échapper quelques germes pathogènes. L'aboutissant est le cœur droit, tout comme dans la généralisation d'origine cervicale; aussi les bacillémies en provenance de l'intestin créent-elles dans les divers organes, poumon, foie, rate, tissu osseux, ganglions périphériques, exactement les mêmes lésions que celles réalisées par la voie cervicale; nous ne décrirons pas à nouveau les divers aspects de ces généralisations.

Dans la présente modalité l'inondation sanguine ne paraît être ni plus précoce ni plus grave que précédemment. Un point qu'il est utile de mettre en lumière, c'est que le foie n'est pas atteint directement au moment de l'absorption intestinale du virus; s'il en était ainsi, la généralisation existerait dès le début et se manifesterait en même temps que la caséification mésentérique, fait qui ne s'observe pas. Les bacilles tombent donc dans les voies lymphatiques de l'intestin et se dirigent vers les ganglions, organes de protection interposés entre l'intestin et la circulation sanguine et qui arrêtent momentanément les germes pathogènes. Ici, comme dans les autres régions de l'organisme, le virus tuberculeux semble emprunter exclusivement la voie lymphatique pour sa première étape, c'est-à-dire jusqu'au confluent veineux. Aussi le foie n'est-il atteint qu'au moment de la généralisation et en même temps que le poumon, la rate et les autres tissus.

Ces règles pathogéniques se vérifient dans la tuberculose expérimentale du cobaye et des autres animaux, quel que soit le mode de l'infection périphérique.

*
* *

V. — Voie mixte : amygdalienne et intestinale.

Lors de tuberculose amygdalienne et des ganglions maxillaires, il est fréquent de constater la présence simultanée de tubercules dans les ganglions mésentériques. Le plus souvent, l'importance des lésions cervicales l'emporte sur celle des ganglions intestinaux, mais le contraire est également possible quoique très rare; enfin, il peut y avoir égalité approximative dans la valeur de chacun de ces modes d'infection chez le même sujet.

Dans tous ces cas, il est évident que les lésions de généralisation pourront avoir une double origine si le sujet survit un temps suffisant.

(*A suivre.*)

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1 rue Cassette.

29e ANNÉE DÉCEMBRE 1915 N° 12

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DES ÉCHANGES ENTRE LES RACINES ET LE SOL. ÉCHANGES ENTRE LES DIVERS TISSUS DE LA PLANTE

par P. MAZÉ.

J'ai établi au cours de recherches antérieures (1), que les racines tendent à puiser, dans le milieu qu'elles envahissent, une solution de composition définie, dont l'afflux vers les divers organes de la plante est réglé par le travail chimique qui s'y accomplit.

Les échanges entre la plante et son milieu nutritif ne sont donc pas livrés au libre jeu des lois physiques.

Lorsqu'on s'est avisé de transporter intégralement les lois de l'osmose dans le domaine de la physiologie, on a donné au raisonnement le pas sur les faits.

Il est arrivé que les faits ne cadrent plus avec les théories issues de raisonnements par analogie. Ce sont donc les théories qui sont en défaut.

Il convient de les reviser ou de leur substituer une conception mieux en harmonie avec les renseignements fournis par l'expérience.

J'ai déjà assimilé le mécanisme de l'absorption à une filtra-

(1) P. Mazé, Rôle de l'eau dans la végétation. Ces *Annales*, t. XXVII, décembre 1913, p. 1093.

tion à travers un réseau à mailles rétractiles, essentiellement réglable, capable de laisser passer les substances colloïdales ou de s'opposer même à l'infiltration de l'eau (*loc. cit.*).

Cette interprétation qui découle directement des faits n'exclut pas, *a priori*, l'intervention des phénomènes osmotiques. Je m'attacherai donc tout d'abord à faire la part de ces derniers.

Je pourrais déjà la fixer par la discussion des faits relatifs à l'absorption :

C'est ainsi, par exemple, que le rôle de l'osmose apparaît tout de suite comme très effacé, quand on constate qu'une solution nutritive étendue est rapidement privée de ses éléments solubles par les racines, et qu'une solution concentrée s'enrichit, au contraire, tout en fournissant à la plante toutes les substances qui lui sont nécessaires. Dans le premier cas, les racines absorbent plus de sels que d'eau; dans le second, c'est l'eau qu'elles empruntent en plus grande quantité que les sels.

Mais malgré la valeur probante de ces faits, j'ai tenu à revenir sur la question. L'absorption est en effet l'acte qui amorce la circulation de la sève; si on parvient à en connaître tous les rouages, il est vraisemblable que l'on réussira aussi à fournir une interprétation rationnelle des échanges entre les divers tissus de la plante.

Partout où les actions osmotiques peuvent se manifester, elles tendent à établir l'identité de composition de deux solutions séparées par une membrane perméable.

C'est ce critérium que j'ai adopté pour étudier le rôle de l'osmose dans le phénomène de l'absorption. Il conserve en effet toute sa valeur, puisque les racines, qui sont aussi des organes d'excrétion, laissent passer dans les deux sens les substances minérales et organiques dans les conditions normales de la végétation.

Je dois faire remarquer, du reste, que j'ai déjà abordé indirectement la question, et que les conclusions qui la concernent peuvent être tirées des chiffres relatifs à la richesse en cendres des plantes cultivées dans des solutions de concentration variable.

Ces conclusions sont naturellement défavorables à l'intervention des phénomènes osmotiques dans les échanges entre les racines et la solution nutritive.

Elles ne font que traduire sous une forme particulière, au même titre que les résultats fournis par l'étude de l'absorption des solutions de concentration variable, les conséquences de la loi que j'ai énoncée en tête de la page précédente.

Mais comme elles portent sur l'ensemble des éléments minéraux qui constituent les cendres, elles ne possèdent pas la force probante qu'il est facile d'atteindre dans cet ordre de faits.

Au lieu d'envisager la totalité des substances minérales qui restent après la calcination au rouge, il est en effet plus simple de considérer un seul corps et de déterminer sa concentration dans la liqueur nutritive et dans les divers sucs de la plante à un moment quelconque, au cours de la végétation. Il y a en outre un avantage évident à choisir une substance que la plante tolère à haute dose, afin que les écarts constatés fassent ressortir le sens de la conclusion avec une grande netteté.

Dans les expériences que je vais décrire, j'ai donné la préférence au saccharose, parce qu'il répond à toutes ces conditions et aussi parce qu'il constitue une substance de réserve dont l'accumulation dans certaines plantes a été expliquée de diverses façons.

J'ai tenu pourtant à refaire la démonstration sur les éléments des cendres. Mais au lieu de laisser à la plante le soin d'enrichir ou d'appauvrir graduellement la solution nourricière sous l'influence de la végétation, j'ai augmenté brusquement la teneur du liquide nutritif en matières minérales à un moment où le végétal avait déjà atteint un assez grand développement. Les conséquences de ce traitement sur l'absorption des substances minérales sont intéressantes à noter.

Les conclusions concernant le rôle de l'osmose étant acquises, il était tout indiqué de poursuivre l'étude du mécanisme de l'absorption. Sur ce terrain, ce sont les propriétés du sac protoplasmique qui se révèlent dès l'abord et au premier rang la motilité du protoplasme.

L'examen du phénomène de la plasmolyse, de la poussée des racines, de la pression ou de la dépression qui se manifestent dans la plante suivant l'état de la végétation, se présentent ensuite comme les conséquences logiques d'une conception basée sur l'observation et l'expérience.

Voilà les divers points que j'aborderai dans ce mémoire.

II

Rôle de l'osmose.

Les solutions nutritives additionnées de 5, 2 et même 1 p. 100 de saccharose s'enrichissent progressivement en sucres sous l'influence de la végétation.

Quand les plantes ont atteint un certain développement, la richesse saccharine de la solution devient suffisante pour gêner la transpiration diurne.

Les racines n'absorbent plus assez de liquide pour subvenir aux besoins de la végétation. Les feuilles perdent leur turgescence au soleil; mais elles la reprennent pendant la nuit (V. Rôle de l'eau dans la végétation, *loc. cit.*).

Quand ces symptômes sont fortement accusés on arrête les cultures et on détermine la richesse saccharine des solutions nutritives ainsi que des sucs des divers organes de la plante.

Les chiffres du tableau I ont été obtenus dans ces conditions : le sucre est calculé en saccharose pour 100 cent. cubes de liquide.

Tableau I.

Nos des MAÏS	SUCRE DANS LA SOLUTION NUTRITIVE (p. 100) au début		à la fin	SUCRE DANS LES ORGANES DE LA PLANTE (p. 100) Racines	Tige	Feuilles
1	5	Sucre réducteur.	1,896	»	3	3,2
		Sucre total.	6,395	»	3,66	3,35
2	2	Sucre réducteur.	0,117	1,66	1,56	1,41
		Sucre total.	2,972	1,86	1,60	1,45
3	2	Sucre réducteur.	0,260	2,25	2,3	2,77
		Sucre total.	3,575	3,125	2,81	2,77

Remarquons d'abord que la variété de maïs jaune gros, Vilmorin, que j'utilise dans mes recherches, ne renferme guère que des sucres réducteurs. Parmi eux, il y a vraisemblablement du maltose, dans les feuilles tout au moins; je n'en ai pas

déterminé la proportion pour la raison bien simple que sa connaissance n'aurait apporté aucune contribution à la conclusion qui se dégage de ce tableau.

Il en résulte, en effet, que le suc des racines, séparé de la solution nutritive par une membrane cellulosique et le sac protoplasmique, présente une composition saccharine nettement différente, en quantité et en qualité, du liquide ambiant.

Les écarts sont si marqués qu'on ne peut songer à faire une part même minime aux actions osmotiques dans l'absorption des sucres par les racines.

L'augmentation rapide de la richesse saccharine de la solution nutritive prouve, ainsi que je l'ai déjà montré à plusieurs reprises, que les racines n'absorbent pas la solution en nature ; elles lui empruntent relativement beaucoup plus d'eau que de sucres et il arrive un moment où l'absorption de l'eau elle-même devient impossible. La plante n° 1 est parvenue à cet état où ses cellules ne peuvent supporter un nouvel apport de sucre. Exposée au soleil, elle perd sa turgescence à vue d'œil (1).

Ce phénomène est moins prononcé chez les n°s 2 et 3 ; la richesse saccharine de leurs sucs cellulaires est, en effet, sensiblement inférieure à celle des organes correspondants de la plante n° 1 ; elles continuent d'ailleurs à gagner du poids, pendant que la végétation du n° 1 peut être considérée comme arrêtée (2).

Tous ces faits cadrent bien avec l'interprétation que j'ai donnée du mécanisme de l'absorption (*loc. cit.*).

Si on réduit le travail chimique de la plante de façon à

(1) Ces *Annales*, 3e mémoire, t. XXVII, p. 1093.

(2) Je n'ai pas pu évaluer le poids frais de ces plantes à cause de l'impossibilité d'essorer convenablement les racines; mais les pertes de poids des flacons dues à la transpiration permettent de calculer leur poids sec avec une approximation suffisante en utilisant les données établies, dans le 3e mémoire, t. XXVII, p. 1093 de ces *Annales*.

En admettant par conséquent que la formation d'un gramme de matière végétale sèche entraîne par évaporation une perte d'eau de 75 grammes environ, on obtient comme poids approximatifs des plantes, au moment où l'on a arrêté l'expérience, les chiffres suivants :

	EAU ÉVAPORÉE en grammes.	POIDS SEC DES PLANTES en grammes.
N° 1	357	4,76
N° 2	576	7,68
N° 3	843	11,24

diminuer l'afflux de la solution vers les organes aériens, il est vraisemblable que l'équilibre de la composition saccharine de la solution nutritive et des sucs cellulaires se réalisera plus facilement.

Pour vérifier cette présomption, deux plantes de la même série que les précédentes ont été exposées à la lumière diffuse, dans le laboratoire, pendant onze jours. Soumises au même traitement que celles du tableau I, en vue des mêmes déterminations, elles ont donné les résultats suivants :

Tableau II.

NUMÉROS DES PLANTES	SUCRE DANS LA SOLUTION NUTRITIVE (p. 100)			SUCRE DANS LES ORGANES DE LA PLANTE (p. 100)		
	au début		à la fin	Racines	Tige	Feuilles
1	5	Sucre réducteur.	3,92	1,166	traces	»
		Sucre total.	6,27	1,66	0,12	»
2	2	Sucre réducteur.	2,32	0,39	traces	0,2
		Sucre total.	3,98	0,56	0,06	0,23

Contrairement à ce que l'on pouvait présumer, les plantes se sont appauvries en sucre ; elles ont vécu sur leurs réserves ; le sac protoplasmique est resté imperméable au sucre. Les phénomènes osmotiques n'interviennent donc pas dans les échanges entre les racines et le milieu nutritif qu'elles envahissent (1).

J'avais admis que, dans ces conditions de nutrition ralentie, l'intervention des phénomènes osmotiques était vraisemblable ; mais même cette concession n'est pas confirmée par l'expérience (*loc. cit.*).

La conclusion qui se dégage de l'étude des échanges dans les milieux purement minéraux a la même netteté, comme on va le voir ; sa signification est identique.

On a mis en culture, le 27 avril 1914, dans des flacons de

(1) Les poids de solution évaporés et les poids secs calculés des plantes nos 1 et 2 sont respectivement 335 et 893 grammes, 4,46 et 11,0 grammes.

4 à 5 litres de capacité, une série de 7 maïs alimentés par la solution minérale suivante, préalablement stérilisée à 120 degrés :

Nitrate de sodium	0,5 gr.
Phosphate de potassium (1)	0,5
Sulfate de magnésium	0,1
Sulfate ferreux	0,05
Chlorure de manganèse	0,02
Chlorure de zinc	0,02
Silicate de potassium	0,02
Carbonate de calcium	2,00
Eau de source	1000

Je rappelle que les flacons de culture sont munis de deux tubulures. L'une centrale est réservée à la plante, l'autre latérale porte un tube qui passe dans un tampon de coton fortement serré et descend jusqu'au fond du flacon. Ce tube permet d'introduire dans le récipient des solutions d'entretien au cours de l'expérience, dans des conditions d'asepsie rigoureuse.

Le 2 juin, on prélève sur les 7 maïs qui composent la série, un groupe de 4 plantes destinées à la démonstration projetée ; on évalue les poids de solution qu'elles ont déjà évaporés, et on déduit de ces chiffres leurs poids secs approximatifs en admettant que l'élaboration d'un gramme de matière végétale exige 140 grammes d'eau.

On obtient ainsi, à titre d'indication concernant le développement des plantes, les résultats suivants :

Tableau III.

	EAU ÉVAPORÉE en grammes.	POIDS SEC DES PLANTES en grammes.
N° 1	613	4,37
N° 2	450	3,21
N° 3	450	4,64
N° 4	532	3,80

Le 3 juin, on fournit aux plantes n°s 1 et 2 la solution d'entretien suivante, solution E :

Nitrate de sodium	0,5 gr.
Phosphate de potassium	0,5
Sulfate de magnésium	0,1
Eau de source	1000

(1) Mélange des phosphates mono et bipotassique donnant dans la solution stérilisée une réaction acide à la phénolphtaléine correspondant à 80-100 milligrammes de NaOH par litre.

Le n° 1, qui avait perdu par évaporation 719 grammes de solution, a reçu 947 grammes de solution E; le n° 2, dont la perte était de 530 grammes, en a reçu 691.

Le 4 juin, les n°s 3 et 4 reçoivent une solution d'entretien de même composition, mais de concentration dix fois plus grande, solution E_{10}. Le n° 3, qui avait évaporé à ce moment 867 grammes de la solution primitive, a reçu 1.021 grammes de solution E_{10}; le n° 4 en a reçu 1.024 grammes pour compenser une perte de 682 grammes.

On avait ainsi deux lots de deux plantes : le premier lot constitué par les n°s 1 et 2 allait évoluer dans les conditions ordinaires et servir de témoin au deuxième lot, dont le développement devait se poursuivre aux dépens d'une solution concentrée.

La concentration théorique des solutions nutritives des n°s 3 et 4 était, en effet, portée respectivement à 3,396 et 3,418 p. 1.000. La concentration vraie est légèrement inférieure à ce chiffre, car la plante prélève sur la solution E une solution physiologique un peu plus riche en éléments solubles.

Dans un tel milieu, les graines de maïs ne germent pas; les plantules développées en tubes sur de l'eau distillée pendant 10-15 jours, et placées dans une liqueur nutritive aussi concentrée, n'évoluent pas non plus. Mais les plants de maïs pourvus de plusieurs feuilles normales, et d'un système radiculaire déjà important, continuent d'assimiler et de gagner du poids.

Le 24 juin, on n'observe pas encore de différence appréciable entre le n° 3 et les deux témoins ; mais le n° 4 souffre visiblement de l'excès de richesse de la solution nutritive.

Les poids de solution évaporés respectivement par les 4 plantes en quarante-huit heures, du 22 au 24 juin, sont les suivants :

Témoins :	1	255 grammes.
	2	235 —
Plantes traitées :	3	240 grammes.
	4	165 —

Le 24 juin, on introduit dans les flacons des n°s 3 et 4 un volume suffisant de solution E_{10} pour compenser les pertes dues à l'évaporation depuis le 4 juin. J'ai réuni dans le tableau IV toutes les données concernant le bilan de l'opération.

Tableau IV.

	CONCENTRATION THÉORIQUE des solutions au 4 juin p. 1.000	EAU ÉVAPORÉE du 4 juin au 24 juin en gr.	SOLUTION E_{10} FOURNIE le 24 juin en gr.	CONCENTRATION THÉORIQUE des solutions au 24 juin p. 1,000
N° 3	3,396	1.587	1.683	6,621
N° 4	3,418	1.205	1.203	5,800

A partir de ce moment, les progrès des témoins sont beaucoup plus rapides que ceux des plantes traitées. Le 30 juin, le n° 4 présente des symptômes très nets de chlorose : des gouttes de solution d'azotate de fer à 1/5.000 déposées sur les feuilles décolorées produisent, au bout de vingt-quatre heures des taches visibles dues à la formation de pigment chlorophyllien dans les cellules qui ont absorbé le fer de la solution. Le n° 3 perd également sa couleur vert foncé, et prend une teinte vert clair, exactement comme les plantes qui ont épuisé leur solution nutritive.

L'évaluation des pertes de poids des flacons dues à la transpiration diurne T. D. et à la transpiration nocturne T. N. permet de suivre très exactement la marche de la végétation des 4 plantes (tableau V). Les chiffres correspondant à T. D. ont été obtenus en calculant la différence des pesées faites à 9 heures et à 19 heures; ceux des colonnes T. N. représentent la différence des pesées effectuées à 19 heures et à 9 heures le lendemain.

Tableau V.

DATES	PLANTE N° 1		PLANTE N° 2		PLANTE N° 3		PLANTE N° 4	
	T.D.	T.N.	T.D.	T.N.	T.D.	T.N.	T.D.	T.N
25 juin . . .	220	25	155	20	145	15	105	10
26 juin . . .	258	22	196	24	155	20	125	15
27 juin . . .	260	35	198	27	135	22	115	20
28 juin . . .	298	32	243	37	153	20	122	23
29 juin . . .	238	27	203	25	130	20	105	15
30 juin . . .	237	35	215	25	140	20	113	10
1er juillet . .	293	40	235	38	145	15	127	10
2 juillet . .	237	25	219	28	125	18	123	17
Totaux . .	2.041	241	1.664	224	1.128	150	935	120

Ces évaluations, qui portent seulement sur une période de huit jours, montrent l'avance énorme que prennent les témoins sur les plantes traitées.

Chez les témoins, l'activité de la transpiration augmente graduellement; elle est plus sensible chez le n° 2 parce que cette plante n'avait pas encore atteint l'état de développement où la transpiration semble rester stationnaire (IIIe mémoire). Chez les plantes traitées, la transpiration tend à diminuer malgré l'augmentation de poids; mais il est visible que le ralentissement brusque, correspondant à l'augmentation de la richesse minérale de la solution, traduit des conditions défavorables auxquelles les plantes adultes résistent encore pendant quelque temps.

Le 10 juillet, on met fin à l'expérience; elle avait duré soixante-quatorze jours; les plantes traitées étaient encore bien vivantes, condition sans laquelle les renseignements cherchés auraient été sans valeur.

J'ai réuni dans le tableau VI les résultats relatifs aux poids des plantes, aux poids de solutions évaporées, et à l'état final des solutions résiduelles.

Tableaux VI et VII.

Nos des plantes	POIDS SEC des plantes en grammes	EAU ÉVAPORÉE en grammes	EAU ÉVAPORÉE par kilogr. de poids sec en kilogr.	VOLUME EN C. C. de la solution résiduelle	EXTRAIT SOLUBLE de la solution résiduelle à 100° p. 1.000
1	37,671	5.841	155	2.289	1,169
2	28,375	4.878	171,8	2.230	0,950
3	24,980	4.237	169,6	2.321	9,040
4	16,630	3.397	204,2	2.515	6,960

ORGANES de la plante.	PLANTE N° 1		PLANTE N° 2		PLANTE N° 3		PLANTE N° 4	
	CENDRES p. 100 de poids sec	ALCALINITÉ des cendres en NaOH p. 100	CENDRES p. 100 de poids sec	ALCALINITÉ des cendres en NaOH p. 100	CENDRES p. 100 de poids sec	ALCALINITÉ des cendres en NaOH p. 100	CENDRES p. 100 de poids sec	ALCALINITÉ des cendres en NaOH p. 100
Racines.	17,77	14,44	18,23	11,57	19,07	28,04	22,55	11,27
Tiges. .	9,05	24,31	11,84	18,50	20,45	37,93	22,55	27
Feuilles.	13,06	16,41	13,06	12,50	16,27	16,08	20,02	8,42

Le tableau VII contient les renseignements utiles sur la richesse des organes en cendres et leur alcalinité exprimée en soude NaOH p. 100 du poids des cendres.

Dans ces deux tableaux, les chiffres qui nous intéressent le plus sont ceux des extraits solubles des solutions résiduelles, et ceux qui expriment la teneur en cendres des organes végétaux.

Ils nous montrent qu'à des solutions nutritives dont les concentrations sont 1 et 9 p. 1.000, correspondent des taux de cendres de 9 et 20 p. 100 dans les tiges et de 13,06 et 16,27 p. 100 dans les feuilles.

Ces résultats sont bien de même ordre que ceux qui découlent de l'étude des solutions sucrées (1).

III

Rôle du protoplasme.

On s'accorde à attribuer au protoplasme un rôle prépondérant, sinon exclusif, dans les échanges nutritifs de cellule à cellule et dans l'absorption des substances alimentaires du sol par les racines.

On sait cependant que la structure de la membrane cellulosique des cellules végétales peut exercer une certaine influence sur le passage des aliments minéraux ou organiques ; mais cette membrane n'est qu'une enveloppe inerte que le protoplasme modifie suivant ses besoins.

C'est donc l'action de ce dernier qu'il faut suivre attentivement si l'on veut découvrir parmi ses nombreuses propriétés

(1) Les résultats fournis par cette expérience ne se bornent pas à cette conclusion.

Ils m'ont permis, en effet, d'envisager le rôle de la chlorophylle dans la végétation. (*Comptes rendus*, t. CLX, p. 739).

Je dois faire remarquer, en outre, que la richesse minérale des feuilles des numéros 3 et 4 dépasse sensiblement les limites extrêmes qui ont été observées dans toutes mes expériences antérieures touchant la répartition des cendres dans les organes du maïs.

L'enrichissement brusque d'une solution minérale, dans laquelle plongent les racines d'une plante développée et vigoureuse, a pour conséquence une accumulation anormale de substances minérales dans les divers organes de la plante. On n'observe rien de semblable chez celles qui sont cultivées dans une solution riche à l'origine où la concentration se produit graduellement sous l'influence de la végétation.

chimiques ou physiques, celles qui président au réglage des échanges avec le milieu ambiant.

Pour éviter les complications résultant de la présence de l'enveloppe cellulosique, on est conduit à provoquer expérimentalement des variations dans l'activité de l'absorption, par des moyens manifestement incapables de modifier la structure physique ou la constitution chimique de la membrane.

J'ai réalisé ces conditions en mettant en œuvre la chaleur et les anesthésiques.

Action de la chaleur sur l'absorption des solutions nutritives par les racines.

Des flacons de 2 litres de capacité, portant des maïs déjà pourvus de plusieurs feuilles, sont placés au bain-marie ou dans la glace fondante ; les organes aériens des plantes sont exposés à des conditions atmosphériques semblables à celles qui ont présidé jusque-là à leur développement.

Les variations de température n'affectent donc que les racines ; leurs effets sur l'absorption peuvent être mesurés facilement par les pertes de poids des flacons dues à la transpiration, comparées à celles que produisent des plantes de même développement à peu près, placées à côté du bain-marie et du récipient à glace fondante.

Une première expérience a été faite sur des plantes cultivées dans la solution minérale dont j'ai donné la composition à la page 607 additionnée ou non de saccharose.

Cette expérience portait sur 3 lots de 3 plantes placées respectivement dans les milieux suivants à l'abri des microbes.

N° 1 : Solution minérale + 2 p. 100 de saccharose,
N° 2 : Solution minérale + 5 p. 100 de saccharose.
N° 3 : Solution minérale, sans saccharose.

Un lot est mis au bain-marie à 52-54 degrés.

Un deuxième dans la glace fondante.

Un troisième sert de témoin.

Les poids approximatifs des plantes, calculés d'après les poids perdus par les solutions nutritives (voir page 605, note (2), sont consignés au tableau VIII.

Tableau VIII.

	Nos des plantes	SOLUTIONS NUTRITIVES	(1) POIDS PERDU en grammes par les solutions nutritives	(2) POIDS SECS des plantes calculés en grammes
Lot I Bain-marie :	No 1	Saccharose 2 p. 100	312	4,16
	No 2	*Id.* 5 p. 100	153	2,04
	No 3	0	290	2,07
Lot II. Glace fondante :	No 1	Saccharose 2 p. 100	375	5,00
	No 2	*Id.* 5 p. 100	186	2,48
	No 3	0	412	2,94
Lot III. Témoin :	No 1	Saccharose 2 p. 100	470	6,26
	No 2	*Id.* 5 p. 100	242	3,22
	No 3	0	450	3,21

L'expérience a duré trois jours; les conditions atmosphériques ont été favorables à l'assimilation carbonique pendant le premier jour et défavorables pendant les deux autres où le ciel est resté couvert.

Les plantes placées dans le bain-marie ont conservé leur aspect normal pendant toute la durée de l'expérience, bien que la température du bain ait atteint 57 degrés le premier jour, de 14 à 17 heures, sous l'influence des radiations solaires. Elle est tombée à 54-55 degrés à 19 heures et s'est maintenue à 52-53 degrés pendant la nuit. Elle n'a pas dépassé 54 degrés, pendant les deux jours suivants.

Les maïs dont les flacons étaient entourés de glace fondante ont perdu graduellement leur turgescence au soleil au bout de deux heures. Les feuilles de la base de la tige se sont fanées définitivement; les feuilles terminales enroulées et pendantes reprenaient en partie leur turgescence la nuit, pour la perdre le jour dès que l'assimilation devenait sensible; mais il n'y avait aucune différence appréciable entre les plantes qui végétaient dans les solutions sucrées et celle qui poussait en solution purement minérale.

L'influence du sucre dont la concentration était supérieure à 6 p. 100 dans les solutions qui avaient reçu à l'origine 5 p. 100 de saccharose est donc négligeable.

Ce résultat pouvait se prévoir d'après les chiffres des tableaux I et II, pages 604 et 606, qui montrent que le suc cellu-

laire est beaucoup plus pauvre en sucres que la liqueur nutritive; mais il était bon de le confirmer par l'expérience.

Voici maintenant, exposés dans le tableau IX, les poids de solution que les plantes ont évaporés pendant toute la durée de l'expérience. J'ai calculé en outre les rapports de ces poids aux chiffres correspondants consignés dans la colonne (1) du tableau VIII. C'est le seul moyen de rendre comparables les résultats observés sur chaque lot considéré isolément, puisque les plantes sont alimentées par des solutions différentes.

Tableau IX.

	Nos DES PLANTES	POIDS de solution évaporé pendant l'expérience en grammes	RAPPORT de l'eau évaporée pendant, à l'eau évaporée avant l'expérience
Lot I. Bain-marie :	1	83	0,26
	2	40	0,26
	3	61	0,21
Lot II. Glace fondante :	1	22	0,058
	2	13	0,07
	3	13	0,072
Lot III. Témoin :	1	106	0,22
	2	23	0,10 (1)
	3	89	0,19

(1) Cette plante, qui avait un peu d'avance sur les deux autres de la série à 5 p. 100 de sucre, perdait déjà sa turgescence au soleil.

Les chiffres du tableau IX prouvent, comme on le voit, qu'une température élevée, mais non mortelle pour les cellules des racines, ne change pas les conditions de l'absorption ; c'est une action favorisante qu'on serait tenté de lui attribuer.

Par contre, la température de 0 degré diminue fortement l'activité des racines. Conservées pendant plusieurs jours après ce traitement, les plantes des lots I et II ont continué de végéter ; celles du lot II ont repris peu à peu leur aspect normal, mais elles n'ont conservé que leurs feuilles terminales.

Les mêmes conclusions découlent d'une seconde expérience effectuée sur des plantes cultivées dans des solutions purement minérales de concentration double de celle de la page 607 :

Pour étudier l'influence d'une température élevée sur l'absorption, j'ai utilisé un lot de quatre plantes dont deux étaient placées au bain-marie et deux conservées comme témoins.

Ces plantes avaient déjà consommé les poids suivants de solution nutritive :

N° 1	1.162	grammes.
N° 2	1.461	—
N° 3	1.100	—
N° 4	746	—

Leurs poids secs étaient compris entre 5 et 8 grammes environ.

Pour déterminer comparativement leur puissance d'assimilation, on a évalué les poids de solutions qu'elles ont évaporés pendant les deux jours qui ont précédé l'expérience.

Voici les chiffres qu'on a obtenus :

N° 1	56	grammes.
N° 2	65	—
N° 3	62	—
N° 4	50	—

Les plantes n°s 1 et 2 ont été placées au bain-marie, réglé à 55 degrés, les n°s 3 et 4, servant de témoins, étaient exposées à côté du bain-marie aux mêmes conditions atmosphériques.

L'expérience a duré six jours; la température du bain-marie a atteint au soleil des maxima de 58-59 degrés et même 60°5.

On a évalué les pertes dues à l'évaporation et par conséquent l'activité de l'absorption à trois reprises différentes :

1° Au bout de trente heures;

2° A la fin des deux jours suivants;

3° A la fin d'un troisième laps de temps de trois jours.

J'ai réuni dans le tableau X les résultats de ces évaluations.

Tableau X.

	POIDS DE SOLUTION ÉVAPORÉ EN GRAMMES		
	pendant 30 heures	pendant les 2 jours suivants	pendant les 3 jours suivants
N° 1. Bain-marie	50	58	75
N° 2. *Id.*	54	28	24
N° 3. Témoin	58	75	202
N° 4. *Id.*	51	52	178

On peut constater d'après ces chiffres que l'activité de l'absorption n'a pas fléchi beaucoup pendant les 30 premières heures chez les plantes dont les racines étaient exposées à la température de 58-59 degrés; mais, par la suite, le n° 2 a perdu sa turgescence et ses feuilles se sont fanées ; la perte de poids constatée pendant les trois derniers jours est due en partie à la dessiccation de la plante.

Le n° 1 a résisté plus longtemps, mais il perdait sa turgescence au soleil pendant l'expérience.

On peut donc admettre que les racines des plantes exposées à une température élevée ont fonctionné normalement pendant vingt-quatre heures et absorbé autant de liquide que celles des plantes témoins.

Mais l'action prolongée d'une température qui s'élevait progressivement au soleil jusqu'à 60 degrés a tué les cellules des racines; l'absorption n'étant plus réglée, la plante tout entière n'a pas tardé à périr.

L'étude de l'influence de la température de 0 degré sur l'absorption a été faite sur un lot de cinq plantes, celles-ci étaient plus développées que celles qui ont servi à l'essai précédent. Elles avaient évaporé les poids de solution suivants au moment où on les a soumises à l'expérience :

N° 1	1.140	grammes.
N° 2	1.885	—
N° 3	1.700	—
N° 4	1.750	—
N° 5	1.715	—

La capacité des flacons de culture étant égale à 2 litres, on voit que les plantes avaient à peu près consommé leur solution nutritive; on a donc pris la précaution de remplir les flacons, puis on a déterminé l'activité assimilatrice des plantes en évaluant les pertes produites par la transpiration pendant quatre jours. Voici les chiffres qui ont été relevés :

N° 1	468	grammes.
N° 2	303	—
N° 3	486	—
N° 4	402	—
N° 5	255	—

Les trois premières plantes du lot ont été placées, immédia-

tement après cette détermination, dans la glace fondante, les deux dernières remplissaient le rôle de témoins.

Au bout d'une heure d'exposition au soleil, les plantes dont les racines étaient maintenues à 0 degré perdaient leur turgescence et présentaient exactement le même aspect que celui qu'on avait déjà observé au cours de la première expérience.

L'activité de l'absorption, mesurée par la perte de poids des flacons, a été évaluée chez les témoins et le nº 2 placé dans la glace fondante, d'abord à la fin des deux premiers jours d'expérience, puis au bout de vingt-quatre heures suivantes [tableau XI ci-dessous, colonnes (1) et (2)] ; la colonne 3 donne la somme des poids perdus pendant toute la durée de l'expérience, c'est-à-dire quatre jours. On n'a pas fait d'autres déterminations sur les nos 1 et 3 afin d'éviter l'émiettement du bloc de glace où les trois flacons étaient encastrés.

Tableau XI.

	POIDS DE SOLUTION ÉVAPORÉ EN GRAMMES		
	Pendant 30 heures — (1)	Pendant 2 jours — (2)	Pendant toute la durée de l'expérience : 4 jours — (3)
Nº 1 Glace fondante	»	»	210
Nº 2	35	35	123
Nº 3	»	»	118
Nº 4 Témoin	161	114	400
Nº 5	109	95	300

Ces chiffres indiquent une diminution très nette de l'absorption à 0 degré. La température des solutions dans les flacons témoins, directement exposés au soleil et simplement protégés par un papier fort, gris à l'extérieur, noir sur la face interne, est constamment variable et suit les oscillations de la température de la véranda; les maxima varient de 35 à 40 degrés, à l'abri du soleil, par les belles journées de juillet et les minima de 18 à 25. (Voir 3e mémoire, *loc. cit.*)

Un écart de température supérieur à 20 degrés, entre les organes aériens et les racines de la plante, détruit l'équilibre qui existe ordinairement entre l'entrée de l'eau par les racines et sa sortie par les feuilles à l'état de vapeur.

Il est vrai que la température de 0 degré est incompatible

avec la vie active de la plante; mais les racines ne sont pas mortes.

J'ai conservé, en effet, ce lot de plantes pendant quelques jours dans les conditions ordinaires, afin de suivre la reprise de la végétation ; elle a été un peu lente parce que les feuilles inférieures se sont complètement desséchées; mais les racines ont produit des ramifications et se sont allongées régulièrement.

J'ai réuni dans le tableau XII les pertes de poids des flacons dues à la transpiration pendant quelques jours. Les différences observées entre les plantes traitées et les témoins doivent être attribuées à la réduction des organes assimilateurs et non à un mauvais fonctionnement des organes d'absorption.

Tableau XII.

	POIDS DE SOLUTION ÉVAPORÉ EN GRAMMES		
	le 16 juillet	le 17 juillet	du 17 au 28 juillet
	—	—	—
Par le n° 1	72	135	623
Par le n° 2	38	48	238
Par le n° 3	39	69	334
Par le n° 4	86	156	581
Par le n° 5	75	135	495

On est conduit à se demander, en présence des résultats de ces diverses expériences, quelle est, parmi les multiples propriétés du protoplasme, celle qui règle l'alimentation du végétal en eau et en matières minérales.

Le réglage se fait sans difficulté aux températures les plus élevées que les racines peuvent supporter; mais il n'en va plus de même à 0 degré. Cependant l'activité des racines n'est que ralentie aux basses températures.

Il n'est pas nécessaire du reste d'abaisser la température à 0 degré, pour observer un ralentissement de l'absorption, et une perte correspondante de la turgescence chez les organes aériens (1).

De pareils accidents sont fréquents dans la nature, et leur apparition dans des conditions déterminées est si régulière

(1) La circulation de la sève à diverses températures a été étudiée par de nombreux expérimentateurs.

qu'ils doivent être considérés comme des phénomènes normaux.

On peut les observer en été sur le chou, la betterave, le blé, le trèfle violet, etc. Les feuilles perdent leur turgescence sous un soleil ardent, de 12 à 17 heures ; elles pendent le long de la tige ou se penchent vers le sol comme si elles dépérissaient tout à coup. Mais si l'ombre d'un édifice ou d'un arbre se projette sur la culture, les feuilles des plantes, qu'elle abrite momentanément du soleil, se redressent vigoureusement et font avec celles de leurs voisines un contraste étonnant.

Chez les plantes insolées le travail chimique est si intense que les racines ne parviennent pas à remplacer l'eau que la transpiration enlève aux feuilles. Ce n'est pourtant pas l'eau qui fait défaut dans le sol puisque les plantes mises à l'abri des rayons du soleil reprennent aussitôt leur turgescence ; c'est l'écart qui est trop grand entre la température des racines et celle des organes aériens.

Cette influence si nette de la température sur la vitesse de l'absorption m'oblige à faire un retour en arrière et à examiner une fois de plus si cette influence ne dénote pas l'intervention des phénomènes osmotiques. La loi de Gay-Lussac, relative à la pression des gaz, s'applique aussi aux substances dissoutes et, par conséquent, aux phénomènes osmotiques.

En appelant V_t et V_0 les volumes qui passent à t degrés et à zéro pendant le même temps à travers les racines de deux plantes identiques végétant dans des solutions de même composition, on peut poser :

$$\frac{V_t}{V_0} = \frac{1+\alpha t}{1} = \frac{\frac{1}{\alpha}+}{\frac{1}{\alpha}} = \frac{273+t}{273}$$

si l'absorption est régie par les lois de l'osmose.

En admettant que l'écart de température entre les racines placées à 0 degré et celles des plantes témoins se soit maintenu à 40 degrés pendant toute la durée de l'expérience, la relation précédente donne :

$$\frac{V_t}{V_0} = \frac{273+40}{273} = 1,145.$$

V_t et V_0 sont fournis directement par la balance. En se

reportant maintenant aux tableaux IX, p. 614 et XI, p. 617, on peut constater que le rapport $\frac{V_t}{V_0}$ déduit de l'expérience est compris entre 2 et 4; cela prouve une fois de plus que les phénomènes osmotiques n'interviennent pas dans les échanges entre les racines et les milieux qu'elles envahissent.

L'absorption est donc régie par des forces physiques et mécaniques que la plante gouverne facilement dans les conditions normales, et la propriété du protoplasme qui joue le principal rôle dans ce travail, c'est sa motilité (1).

Les mouvements protoplasmiques expliquent d'abord l'adaptation rapide et presque instantanée du phénomène de l'absorption aux sollicitations de la plante, et comme on sait d'autre part que ces mouvements augmentent ou diminuent avec la température, on conçoit que l'activité de l'absorption se règle facilement sur les besoins de la transpiration si la température des racines s'élève en même temps que celle des organes aériens. Mais on comprend également que l'absorption soit incapable de faire face aux dépenses de la vaporisation, si l'écart entre la température du sol et celle des organes aériens est trop grand; les feuilles s'appauvrissent alors en eau et perdent leur turgescence.

Influence des anesthésiques.

Les anesthésiques sont capables, comme la chaleur, d'exalter ou d'atténuer les mouvements protoplasmiques. J'ai étudié l'action du chloroforme et celle de l'éther. C'est le chloroforme qui m'a fourni les résultats les plus réguliers, en même temps que les plus probants. L'éther s'est montré moins actif dans les conditions où je me suis placé. J'envisagerai d'abord l'action du chloroforme.

Pour la mettre en évidence j'ai placé dans de l'eau distillée renfermant des traces de chloroforme de petits cylindres de pulpe de betterave dite demi-sucrière, et j'ai évalué à des intervalles définis la quantité de sucres excrétés par comparaison avec celle qui est émise dans les mêmes conditions dans l'eau pure.

Les échanges se font donc entre la cellule et le milieu

(1) Opinion déjà ancienne (de Vriès. *Bot. Zeit.*, 1885, p. 1).

ambiant ; c'est, d'ailleurs, le sens de la circulation des réserves lorsqu'elles sont mises en œuvre par le végétal.

L'eau distillée chloroformée est préparée de la façon suivante : On introduit quelques gouttes de chloroforme dans 500 cent. cubes d'eau distillée stérilisée et on émulsionne par agitation. On laisse déposer quelques minutes et on prélève l'eau privée de gouttelettes de chloroforme pour la répartir dans des tubes d'eau distillée stérilisée, à raison de 1, 2, 5, 10, 25 cent. cubes par tube. Le volume d'eau stérilisée préalablement répartie dans les tubes, ajouté au volume d'eau chloroformée, donne un volume constant de 25 cent. cubes.

Dans chaque tube on introduit un cylindre de pulpe de betterave prélevé à l'emporte-pièce sur un gâteau taillé dans une racine. Ces petits cylindres de pulpe ont 1 centimètre de diamètre et, environ, 5 centimètres de long ; leur poids est voisin de 5 grammes. Ils sont préparés et répartis dans les tubes avec toutes les précautions nécessaires pour éviter la contamination, car il importe essentiellement que l'expérience se fasse à l'abri des microbes ; les traces de chloroforme que l'eau renferme ne suffisent pas à assurer l'asepsie ; le chloroforme n'est pas soluble dans l'eau.

On prépare ainsi 5 ou 6 tubes renfermant les mêmes doses infinitésimales de chloroforme, ce qui porte, avec un chiffre égal de témoins, le nombre des tubes à 30 environ pour une seule expérience.

Les tubes sont placés dans une étuve réglée à 30 degrés.

J'ai réuni dans le tableau XIII les résultats d'une expérience.

Tableau XIII.

NOMBRE DE C. C. d'eau chloroformée dans 25 c. c. de liquide	SUCRE TOTAL EXCRÉTÉ, A 30°, EN MILLIGR.	
	au bout de 48 heures	au bout de 4 jours
0 (témoin)	77,8	181,2
1	127,8	193,7
2	155,6	270,8
5	362,5	288,3
10	404,1	354,1
25	366,6	279,1

Le sucre excrété est exprimé en sucre interverti, il est con-

stitué par un mélange de sucres réducteurs et de saccharose ; mais c'est ce dernier qui domine (1).

La richesse saccharine de la portion de racine employée était de 7,5 p. 100.

L'influence du chloroforme sur l'excrétion du sucre est très nette, comme on le voit ; elle se manifeste même à la vue ; les cellules se vident comme si l'eau se substituait mécaniquement au suc cellulaire ; celui-ci se réunit au fond des tubes et fait flotter les fragments de racine.

Sortis des tubes au moment où on analyse leur contenu, les cylindres de pulpe, qui étaient placés dans les liquides additionnés de 5, 10 et 25 cent. cubes d'eau chloroformée, brunissent à l'air après quarante-huit heures de séjour à l'étuve ; ils ont perdu leur turgescence ; le chloroforme a tué les cellules ; les morceaux qui baignent dans le liquide des autres tubes conservent leur turgescence et ne se colorent pas à l'air.

Les cylindres de pulpe morte se laissent pénétrer peu à peu par le suc qu'ils ont excrété ; la diffusion, à laquelle la cellule vivante oppose une barrière infranchissable, s'exerce librement entre le suc extravasé et les cellules mortes. La densité de la pulpe augmente ainsi peu à peu et les fragments retombent au fond des tubes.

Cette curieuse allure du phénomène explique la diminution du sucre excrété dans les liquides les plus riches en chloroforme après quatre jours d'exposition à 30 degrés. Dans les autres tubes le sucre éliminé augmente graduellement ; mais l'expérience poursuivie au delà de quatre jours ne donne plus des résultats aussi probants, à cause de la résorption d'une partie des sucres après la mort des cellules.

J'ai fait une deuxième expérience sur des cylindres de pulpe empruntés à une autre racine de betterave dont la richesse moyenne en saccharose était de 7,48 p. 100.

Les fragments, un peu plus longs que ceux de la première expérience, ont été pesés et soumis à l'influence du chloroforme ou de l'éther.

L'eau éthérée a été préparée de la même manière que l'eau

(1) P. Mazé, L'action du chloroforme se traduit aussi par une sorte d'excitation de l'activité protoplasmique qui a pour résultat d'accélérer l'inversion du saccharose. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, p. 549, t. LXXVII, 1914.

chloroformée ; mais comme la solubilité de l'éther est de 1 pour 12 parties d'eau, les quantités d'éther introduites dans les tubes ne sont pas négligeables ; malgré cela l'influence de l'éther est moins sensible que celle du chloroforme et on n'a évalué le sucre excrété sous son influence qu'au bout de quarante-huit heures.

Les résultats obtenus sont consignés au tableau XIV.

Tableau XIV.

NOMBRE DE C. C. d'eau chloroformée ou éthérée introduite dans 25 cent. cubes de liquide	POIDS des cylindres de pulpe en grammes série de 24 heures	SUCRE TOTAL excrété en 24 heures calculé en sucre interverti en milligrammes	POIDS des cylindres de pulpe en grammes série de 48 heures	SUCRE TOTAL excrété en 48 heures calculé en sucre interverti en milligrammes
		Chloroforme.		
0 (témoin) . .	7,00	4	7,10 (témoin).	13,3
2.	6,85	40	6,00	86,66
5.	6,70	64	6,55	133,33
10.	7,25	266,6	6,80	320
25.	4,30	186,6	5,70	253
		Éther.		
0 (témoin).	»	»	7,10	13,3
2.	»	»	7,05	44
5.	»	»	6,80	40
10.	»	»	7,00	126,66
25.	»	»	6,90	173,3

Ces résultats sont de même sens que ceux du tableau XIII ; mais ils sont un peu moins accusés.

Les anesthésiques augmentent donc la perméabilité du sac protoplasmique. Cette influence est due à une excitation qui se traduit par une accélération des mouvements du protoplasme, car l'extravasation rapide du suc cellulaire ne peut être produite que par le mouvement.

L'influence cesse avec la mort de la cellule, et à partir de ce moment, les lois de l'osmose reprennent leur empire, ainsi que le prouve l'absorption d'une partie du sucre éliminé par le cylindre de pulpe tuée.

Les résultats fournis par les témoins semblent montrer, cependant, que le sac protoplasmique n'est pas tout à fait imperméable aux substances dissoutes dans le suc cellulaire. Cela tient à deux causes : la première est que les fragments de pulpe, prélevés sur des racines conservées jusqu'au mois de

février, se comportent comme des organes mûrs capables d'entrer dans la seconde phase de leur évolution; les réserves y sont mobilisées sous l'influence des conditions favorables à la végétation; la seconde, que la pulpe immergée devient le siège d'une fermentation alcoolique, autrement dit, d'une digestion anaérobie des réserves. Les produits de cette digestion agissent comme les anesthésiques et font périr également la cellule vivante, au bout d'un temps variable avec la température.

La résorption par la pulpe morte d'une partie du sucre excrété (tableau XIII) constitue une confirmation de l'expérience directe, en montrant que la diffusion dans la matière organisée est soumise aux lois de l'osmose, lorsque le protoplasme ne s'oppose plus à leur libre jeu.

Les phénomènes osmotiques s'observent donc dans les tissus morts, et la seule constatation de leurs effets dans un tissu organisé constitue une présomption sérieuse, sinon une certitude de mort.

La perméabilité des tissus morts n'est pas modifiée par les anesthésiques.

Pour démontrer cette proposition, j'ai utilisé des fragments de pulpe de poire (variété Duchesse) mûre, mais encore ferme et sans trace de blettissement.

Le suc renfermait 11,22 p. 100 de sucres, exprimés en sucre interverti, sur lesquels 1,72 de sucre non réducteur et 9,5 de sucres réducteurs.

Les cylindres de pulpe, préparés comme je l'ai indiqué, ont été soumis à l'action du chloroforme, dans les conditions également décrites.

Dans les résultats que j'ai résumés dans le tableau XV, je n'ai tenu compte que de la diffusion des sucres réducteurs, lesquels y sont exprimés en sucre interverti.

Tableau XV.

NOMBRE DE C. C. d'eau chloroformée dans 25 c. c. de liquide.	SUCRES RÉDUCTEURS DIFFUSÉS, EN MILLIGR.		
	en 22 heures	en 44 heures	en 69 heures
0 témoin.	309	325	363
5.	290	343	325
10.	316	333	325
25.	302	345	321

La diffusion s'est accomplie dans tous les tubes avec la plus grande régularité, et elle était déjà complète au bout de vingt-deux heures à 30 degrés. Les cellules mortes ne sont pas sensibles à l'action du chloroforme. Ce résultat ne saurait d'ailleurs surprendre personne.

— On peut maintenant conclure en deux phrases :

L'absorption des solutions nutritives par les racines est réglée, par le protoplasme mobile des poils absorbants, suivant le travail chimique qui s'accomplit dans la plante ; elle ne se fait pas, comme on l'a cru, suivant un mécanisme régi par les lois de l'osmose, car les phénomènes osmotiques ne s'observent que dans la matière organisée morte.

IV

Résumé des faits acquis concernant le mécanisme de l'absorption. Explication du phénomène.

La conclusion générale de toutes les expériences qui ont trait à l'absorption est que les racines tendent à mettre à la disposition de la plante une solution de concentration et de composition déterminée (solution physiologique).

Lorsque la composition de la solution nutritive est exactement celle de la solution physiologique, le développement de la plante se fait dans le minimum de temps, avec le maximum de rendement. La solution pénètre sans entrave dans la circulation et comme elle ne renferme aucun élément nuisible, l'élaboration de la matière végétale se fait dans les meilleures conditions.

Si la solution nutritive est plus concentrée que la solution physiologique, les racines laissent passer proportionnellement plus d'eau que de sels ; le milieu se concentre. Ce résultat s'obtient facilement par la rétraction de la région externe du sac protoplasmique dont la perméabilité pour les substances dissoutes se trouve ainsi diminuée. Ce travail d'adaptation apporte une entrave à l'absorption ; le développement de la plante en subit un retard sensible.

*
* *

Dans la nature, les végétaux trouvent rarement des conditions de milieu qui correspondent à celles que réalisent les deux cas précédents. La solution nutritive formée par l'eau d'imbibition du sol est toujours moins concentrée que la solution physiologique. C'est donc l'étude de l'absorption des solutions diluées qui est appelée surtout à élucider le mécanisme que la nature met le plus souvent en œuvre.

La règle, dans ces conditions, est l'épuisement des solutions nutritives en substances dissoutes. Les racines absorbent proportionnellement plus de sel que d'eau. J'ai assimilé ce résultat à l'absorption de l'oxygène d'une atmosphère confinée par une cellule aérobie (*loc. cit.*).

L'assimilation n'est cependant pas légitime jusqu'au bout. L'absorption de l'oxygène suppose implicitement l'intervention d'une réaction chimique de fixation ; on ne peut pas admettre qu'il en va de même des substances minérales, dans leur rapport avec les poils absorbants ; mais on sait, par contre, que le protoplasme peut fixer, en vertu d'une action de teinture, les substances minérales ou organiques les plus variées. Le fait peut être mis en évidence sur le protoplasma vivant au moyen de réactifs colorés. On constate alors que le protoplasme présente des affinités spécifiques de fixation. C'est par ce moyen, incontestablement, que le sac protoplasmique des poils absorbants fixe les éléments du liquide nutritif de façon à constituer la solution physiologique aux dépens de milieux très dilués. J'ai montré, en outre, que les racines empruntent aux composés insolubles du sol quelques-uns des éléments nécessaires à la préparation de cette solution physiologique.

On est conduit ainsi à distinguer deux phases dans le mécanisme de l'absorption.

La première consiste en un travail de condensation sur les parties externes du sac protoplasmique, momentanément imperméabilisé ; la seconde correspond à l'absorption proprement dite, c'est-à-dire à l'admission, dans la circulation, de la « solution physiologique » préparée par condensation. L'absorption, dans certaines conditions, est un phénomène périodique.

*
* *

Quand l'un des composés solubles de la liqueur nutritive est offert à une concentration élevée par rapport à celle qu'il possède dans la « solution physiologique », le développement de la plante subit un retard qui peut être considérable.

Les résultats que j'ai mis en évidence soit avec des solutions purement minérales, soit avec des solutions sucrées, montrent clairement que le retard est dû à un ralentissement de l'absorption.

Comment peut-on interpréter, dans ces conditions, le fonctionnement des racines?

Il suffit de suivre attentivement l'évolution d'un plant de maïs dont les racines plongent dans une solution sucrée. La végétation suit son cours normal jusqu'au jour où le taux de sucre s'élevant peu à peu au-dessus des limites tolérables pour la plante, les cellules absorbantes diminuent leur perméabilité. A partir de ce moment, la transpiration baisse rapidement de jour en jour et le végétal périt de privation d'eau, dans un liquide nutritif.

Les racines ne peuvent pas s'adapter à une solution qui présente ce défaut de constitution.

*
* *

Lorsqu'enfin un élément vient à manquer dans la liqueur nutritive, la végétation se ralentit ou s'arrête, la plante vit sur ses réserves; elle n'emprunte à la solution que l'eau dont elle a besoin; elle assimile le carbone de l'air de manière à produire le maximum de matière végétale avec le minimum de cendres.

Les racines sont imperméables aux sels et perméables à l'eau seulement.

Les organes aériens présentent des symptômes bien accusés de disette minérale. Les feuilles les plus anciennes meurent à mesure que de nouvelles se forment. Ces dernières prennent une teinte claire, d'un vert fortement nuancé de jaune. Les plantes peuvent vivre d'ailleurs pendant toute la belle saison, si la disette minérale se fait sentir avant que leur poids sec ne dépasse 4 à 5 grammes.

Le résultat est le même si on prive brusquement la plante de plusieurs éléments minéraux au cours de la végétation.

*
* *

En résumé, le mécanisme de l'absorption repose sur deux propriétés générales du protoplasme : sa mobilité et la faculté qu'il possède de fixer les corps solubles en vertu d'un phénomène de teinture.

C'est la première que la cellule met en œuvre pour constituer un véritable filtre dont les pores peuvent se rétrécir jusqu'à l'imperméabilité complète ou se dilater jusqu'à livrer passage aux colloïdes et même aux émulsions d'huiles et de résines.

Entre ces deux extrêmes, l'adaptation jouit d'une grande marge qui peut être mise à contribution soit pour alimenter la cellule en eau pure aux dépens d'une solution nutritive, soit, vraisemblablement aussi, pour tamiser les molécules de grosseurs différentes, à la façon des cellules excrétrices du rein, par exemple.

V

Expérience synthétique.

Les notions que j'ai exposées jusqu'ici découlent directement de l'expérience; elles ont l'avantage d'être l'interprétation immédiate des faits; mais, dans le domaine de la physiologie, l'interprétation dénature quelquefois la vérité. On ne saurait donc prendre trop de précautions pour éviter de tomber dans ce travers qui conduit, de déduction en déduction, à des conceptions qui heurtent le simple bon sens.

C'est pour obéir à cette préoccupation que j'ai cherché à réaliser une expérience simple qui représente comme une mise en scène de toutes les lois relatives à la nutrition minérale des végétaux.

J'ai pris deux plants de maïs vigoureux, d'un poids voisin de 4 grammes, cultivés dans la solution de la page 607. J'ai sectionné toutes les racines à 1 centimètre environ de leur point

d'insertion sur la tige et, après avoir pesé les organes aériens à l'état frais, je les ai placés, le premier (n° 1) dans la liqueur qui l'avait alimenté jusque-là, le second (n° 2) dans l'eau distillée, en immergeant seulement la partie de la tige qui porte les tronçons de racines.

Le sectionnement des racines donnait libre passage à l'eau distillée et à la solution minérale, de sorte que, pendant quelques heures tout au moins, les organes aériens allaient être exposés à un afflux d'eau ou de solution contre lequel il ne leur restait aucun moyen de se défendre. Il s'agit de bien saisir tous les aspects des phénomènes qui vont se dérouler dans ces deux plantes et de les expliquer avec le concours des notions acquises.

Une troisième plante a été naturellement prise comme témoin.

Les plantes mises en place dans les flacons enveloppés de papier, fixées avec du coton fortement serré dans les goulots, exactement comme le témoin, sont exposées au soleil, de midi à 19 heures.

Voici maintenant, pour donner une idée de leurs poids relatifs, les quantités d'eau qu'elles avaient évaporées jusqu'au moment de l'expérience :

N° 1.	511 grammes.
N° 2.	452 —
N° 3 (témoin)	509 —

J'ai tenu à employer des plantes peu développées, parce que celles dont le poids sec atteint 20 grammes sont déjà pourvues de réserves minérales abondantes et résistent à des opérations de ce genre au point de masquer, en grande partie, les symptômes extérieurs des phénomènes que l'on cherche à observer.

Le n° 1 a perdu sa turgescence presque à vue d'œil; le soir, à 19 heures, ses feuilles inférieures sont flétries, et celles du sommet, enroulées à l'extrémité, se penchent fortement vers le sol.

L'aspect du n° 2 diffère moins de celui du témoin; mais il présente aussi des symptômes non équivoques de perte de turgescence.

On a déterminé les pertes d'eau dues à la transpiration de midi à 19 heures; on a pesé les nos 1 et 2 à l'état frais, et on les a remis dans leurs flacons pour continuer l'expérience.

Vingt-quatre heures après, à la suite d'une très belle journée, les deux plantes paraissent définitivement flétries; elles n'avaient pas repris, d'ailleurs, leur aspect normal pendant la nuit. On a refait les mêmes déterminations que précédemment à 19 heures, c'est-à-dire après un intervalle de vingt-quatre heures exactement.

J'ai réuni dans le tableau XVI les résultats des deux séries de pesées.

Tableau XVI.

Nos d'ordre	Eau évaporée en 7 heures en grammes	Eau évaporée pendant les 24 heures suivantes en grammes	Poids des plantes à l'état frais en gr.		
			au début	après 7 heures	après les 24 h. suivantes
1	10	8	33	34,5	31
2	10	19	26	29	26
3	24	39	»	»	»

Conservées pendant plusieurs jours dans les conditions précédentes, les deux plantes privées de racines ont continué de vivre; mais elles ont perdu leurs feuilles inférieures, en présentant tous les signes extérieurs d'une disette minérale.

Les feuilles terminales ont repris peu à peu leur turgescence, puis de nouvelles feuilles se sont formées très lentement. L'évolution de ces feuilles a coïncidé avec l'apparition de nouvelles racines adventives, parties des nœuds le plus rapprochés du liquide.

On a déterminé les pertes d'eau produites par la transpiration à des intervalles de huit et douze jours et on a obtenu les chiffres suivants :

	8 jours	12 jours
N° 1	68	90
N° 2	89	146
N° 3	526	503

Ces chiffres montrent que les plantes, privées de racines, ont repris une certaine activité; mais, contrairement à ce qu'on

aurait pu supposer, c'est l'eau distillée qui a nui le moins au progrès de la végétation ; mais nous n'aurons pas de peine à en trouver la raison.

Les faits que je tenais à mettre en évidence sont ceux qui ont été observés pendant les sept premières heures de l'expérience. On sait, en effet, que les vaisseaux sectionnés se ferment rapidement chez les végétaux vigoureux, grâce à la formation d'un bouchon de matières pectiques; on peut donc supposer que les résultats observés le jour suivant sont dus à l'obturation plus ou moins complète des vaisseaux.

Ce travail de cicatrisation n'était pas sensible sept heures après le début de l'expérience, puisque les plantes étaient plus lourdes à ce moment qu'au début.

Cela prouve que la perte de turgescence peut s'observer lorsqu'il y a enrichissement des tissus végétaux en eau, et si la transpiration a diminué, ce n'est pas parce que le liquide n'a pu affluer dans toutes les parties du végétal, mais bien parce que le travail chimique de la plante a été considérablement diminué sous l'influence des conditions qui lui ont été imposées.

Le n° 1 ne pouvait plus constituer sa solution physiologique, puisque les éléments terreux insolubles, que les excrétions des racines dissolvent dans les conditions normales, lui faisaient entièrement défaut; c'est donc une solution incomplète et, par conséquent, nuisible qui a pénétré dans tous ses tissus, paralysant l'activité des cellules et provoquant la perte de turgescence par intoxication, même en présence d'un excès d'eau. Cet état s'est aggravé par la suite, parce que la plante intoxiquée a mis plus de temps à former son tissu cicatriciel et à produire de nouvelles racines.

Les tissus du n° 2 ont été envahis par l'eau distillée. La différence avec la solution physiologique est grande, et comme les tissus de réserves non encore développés ne pouvaient pas céder au courant d'eau ascendant les éléments qui lui manquaient pour constituer la sève normale, l'activité des feuilles s'est considérablement ralentie ; mais cette plante a réagi plus rapidement que le n° 1, et elle s'est montrée par la suite constamment plus active.

Il faut remarquer, en effet, que la plante n° 1 s'est trouvée en présence d'une solution incomplète tant que ses racines n'ont pas atteint le dépôt insoluble du fond du flacon.

On voit ainsi que cette expérience bien simple permet d'abord de saisir sur le vif les accidents dus à l'ablation complète des racines, et ensuite d'en fournir une interprétation satisfaisante en s'appuyant sur les faits que j'ai établis ; mais je ne vois pas bien comment on aurait pu en découvrir les causes, en se référant aux théories en cours.

(*A suivre.*)

LA TUBERCULOSE DU PORC
ÉPIDÉMIOLOGIE
PATHOGÉNIE ET ÉVOLUTION COMPARÉES

par P. CHAUSSÉ.

Suite et fin (1).

VI. — Voie aérienne directe.

Chez le porc, la voie aérienne directe est très rarement utilisée; cependant nous avons rencontré une demi-douzaine de cas non douteux dans lesquels la maladie revêtait le type respiratoire; on sait que ce dernier est la règle chez l'homme et le bœuf.

Dans la tuberculose porcine d'origine respiratoire il existe une lésion pulmonaire primitive unique, ou tout au plus un petit nombre de lésions semblables. Cette lésion primitive est lobulaire, prismatique, souvent à base pleurale; elle est composée d'un bloc broncho-pneumonique partiellement caséeux.

Les ganglions cervicaux et mésentériques sont indemnes.

La localisation pulmonaire primitive a toujours déterminé, au moment de l'examen, une adénopathie caséeuse dans les ganglions correspondants de l'organe. Pathogéniquement la lésion pulmonaire est identique à celle de l'amygdale et l'adénopathie thoracique est superposable à celle des ganglions maxillaires dans le cas d'infection par la voie cervicale.

A partir de l'adénopathie pulmonaire, le virus est déversé également dans la circulation veineuse et les divers degrés de la généralisation sont semblables à ceux observés dans les formes précédentes. Bien entendu, lorsque la généralisation est récente, on peut reconnaître dans le poumon la lésion pri-

(1) Voir les *Annales*, numéro de novembre 1915, p. 556.

mitive, véritable chancre d'inoculation, et la distinguer des tubercules dus à la bacillémie, car ces derniers sont petits, sphériques, nombreux en général, uniformément disséminés et beaucoup moins développés que la lésion initiale; de plus, le foie, la rate, et parfois les autres tissus, sont intéressés par une bacillémie tant soit peu intense.

*
* *

VII. — Tuberculose de castration.

Signalée en Allemagne par divers auteurs (Meyer, Lohoff, Tempel, Michäel, Jahn, Müller, Strätz, Wyssmann), la tuberculose de castration semblait être inconnue en France; or, pendant ces dernières années, il nous a été donné d'en recueillir cinq cas sur environ 400 observations de tuberculose porcine; mais, avant de la connaître, nous croyons avoir méconnu plusieurs cas de cette intéressante forme de la maladie. Nos cinq observations concernaient des animaux mâles de six à huit mois; l'une était encore à son premier stade; les quatre autres étaient généralisées à divers degrés.

La tuberculose de castration est reconnaissable en ce qu'il existe dans la région testiculaire des lésions prédominantes et de caractères plus anciens que dans les viscères. On trouve généralement des tubercules sous-cutanés au niveau de la cicatrice de castration ou dans la cicatrice elle-même; pour les animaux venant de l'Ouest de la France, opérés par un procédé empirique excellent et que nous avons nous-même utilisé, il convient de rechercher cette cicatrice tout à fait en arrière du scrotum, à quelques centimètres de l'anus, la castration du mâle étant faite en repoussant préalablement le testicule vers l'orifice anal. Ces tubercules cutanés ou sous-cutanés sont petits, durs, caséo-calcaires, avec une enveloppe fibreuse résistante; quelques-uns se développent en plein tissu adipeux sous-cutané.

De la cicatrice partent deux tractus fibreux qui se dirigent vers les anneaux inguinaux et qu'un examen attentif permet de reconnaître comme étant les gaines vaginales atrophiées; si on les ouvre longitudinalement par une incision on y trouve le

plus souvent, au moins dans l'une d'elles, d'autres granulations caséeuses enveloppées de tissu fibreux rose et qui sont à divers états de développement.

Les ganglions régionaux, c'est-à-dire les ganglions inguinaux pour les lésions cutanées et sous-cutanées, et les ganglions iliaques pour la gaine vaginale, sont fortement hypertrophiés et caséeux.

Le plus souvent, il y a prédominance d'un côté ou unilatéralité des lésions cutanées, vaginales et ganglionnaires, car l'inoculation a des chances de se faire inégalement par chaque plaie de castration ou exclusivement par l'une d'elles.

Dans un cas nous avons constaté que la cicatrice de castration ne contenait pas de lésions tuberculeuses, tandis que la gaine vaginale en renfermait un grand nombre; conséquemment les ganglions inguinaux n'étaient pas tuberculeux, mais les ganglions iliaques, en rapport avec la séreuse testiculaire, étaient fortement caséifiés. Dans les conditions réalisées au moment de la castration il est possible, en effet, que l'inoculation ait lieu dans la gaine vaginale, sans toucher aux téguments ni à l'incision, et que cette incision se referme assez tôt pour ne pas être infectée.

A partir des ganglions iliaques les lésions se propagent par continuité aux ganglions sous-lombaires.

Dans la tuberculose de castration on est frappé, en outre, de ce fait que les ganglions cervicaux et mésentériques ne sont pas tuberculisés.

Dans l'une de nos observations la maladie s'était étendue au péritoine, à partir de la séreuse testiculaire, soudant entre eux les replis séreux, les anses intestinales et les divers organes; au niveau des adhérences viscérales on remarquait de petites granulations caséeuses.

Une seule fois, la maladie était encore localisée à la plaie de castration, à la séreuse vaginale et aux ganglions inguinaux et iliaques; l'inoculation au cobaye démontra qu'il s'agissait bien de tuberculose. Quatre fois il y avait des lésions de généralisation; mais, conformément aux règles que nous avons indiquées, l'origine de l'infection était encore facile à reconnaître.

A partir des ganglions iliaques et sous-lombaires le virus est conduit dans le canal thoracique; les conditions sont, dès

lors, identiques à celles réalisées dans la tuberculose d'origine quelconque : cervicale, intestinale, aérienne directe. En dehors des lésions primitives, qui peuvent différer selon les cas et selon les espèces, toutes les formes de la tuberculose spontanée arrivent, en effet, à la généralisation par le même mécanisme et tendent à se confondre à partir de ce moment; mais, dans les limites ordinaires de la vie des animaux, la distinction de la porte d'entrée reste assez longtemps possible pour la plupart des cas.

Les lésions de généralisation dues à la tuberculose de castration sont donc exactement celles que nous avons indiquées pour la tuberculose d'origine cervicale.

* * *

VIII. — Topographie d'ensemble des lésions tuberculeuses porcines.

Nous venons de décrire principalement les altérations tuberculeuses rencontrées chez des animaux âgés de six à huit mois au moment de l'abatage; sauf exceptions assez rares, la maladie n'a eu jusqu'à cet âge aucune influence sur l'état général.

Chez les sujets d'un à deux ans, ou davantage, on peut évidemment rencontrer des états pathologiques beaucoup plus avancés : il y a une destruction plus ou moins complète des organes, poumon, foie, rate, par une véritable floraison de tubercules d'âges divers, de la pleurésie et de la péritonite tuberculeuses, des ostéites et des adénopathies généralisées; ces dernières sont susceptibles de se ramollir et de s'ouvrir à l'extérieur; c'est la scrofulose la plus étendue.

Dans les abattoirs la tuberculose porcine est observée, en général, aux premiers stades seulement, parce que presque tous les sujets sacrifiés n'ont que six à dix mois. Voici le relevé des localisations tuberculeuses, rapporté à 100 cas, chez des animaux de cet âge, sans aucune distinction relative au mode d'infection. Cette topographie d'ensemble n'a d'autre avantage que de montrer la susceptibilité relative de chaque tissu en présence du bacille.

Amygdales staphylines (1)	32	Ganglions poplités	7
Ganglions maxillaires	83	— sous-lombaires (6)	13
— prépectoraux	9	— axillaires	1
— préscapulaires	8	— rénaux (6)	8
— sus-sternaux (2)	11	Foie	46
— mésentériques (3)	44	Ganglions du foie (7)	52
Poumon (4)	65	Rate	31
Ganglions pulmonaires (4)	60	Reins	3
— inguinaux (5)	11	Tuberculose osseuse	10
— iliaques	14	Plèvre	4
— cruraux	5	Péritoine	4

De ces chiffres il résulte que, par ordre de fréquence, les tissus les plus atteints sont : les ganglions maxillaires, le poumon et ses ganglions, le foie et ses ganglions, les ganglions mésentériques, la rate, la moelle osseuse et les divers ganglions ; les reins sont très rarement lésés, au moins chez les jeunes sujets et à l'examen macroscopique.

*
* *

IX. — Étude histologique des lésions et spécialement de celles du poumon.

Pour plus de clarté dans la description des formes de la tuberculose porcine, nous avons passé sous silence les caractères histologiques des lésions.

(1) Ces lésions, lorsqu'elles sont peu développées, sont difficilement découvertes; il est probable qu'avec l'examen microscopique systématique et par l'inoculation au cobaye on en démontrerait constamment l'existence.

(2) Les ganglions sus-sternaux sont atteints secondairement, par rapport aux lobes pulmonaires antérieurs (sommets), ou à la plèvre ou aux lésions du sternum.

(3) La tuberculose des ganglions mésentériques est généralement moins prononcée que celle des ganglions maxillaires.

(4) Dans les cas récents, il arrive que le poumon contient quelques tubercules peu développés et que les ganglions annexes sont apparemment indemnes; cela se conçoit puisque le bacille apporté par le sang s'arrête d'abord dans le parenchyme respiratoire.

(5) Les lésions de ces ganglions sont parfois en rapport avec la tuberculose de castration.

(6) Les lésions des ganglions sous-lombaires et rénaux peuvent être dues à des altérations osseuses ou rénales ou à la propagation directe de la tuberculose de castration, de l'infection mésentérique ou péritonéale.

(7) Contrairement à ce qui est observé pour le poumon, lorsque la généralisation est récente, on trouve plus souvent des tubercules des ganglions hépatiques que du foie lui-même; cela n'infirme pas la règle; le foie ne se prête pas à la palpation à cause de sa consistance, d'où il résulte qu'il est difficile d'y découvrir des tubercules peu nombreux et peu développés ; très généralement, ce seront donc les ganglions qui témoigneront de l'infection de la glande à l'examen macroscopique.

D'une manière générale, ces lésions diffèrent de celles du bœuf en ce que la transformation épithélioïde est moins nette, les cellules de ce type ne sont pas caractéristiques; elles ressemblent surtout aux cellules conjonctives étoilées et anastomosées; les cellules géantes sont moins développées et moins nombreuses que chez le bœuf. La caséification est identique dans son essence ; elle consiste dans la dégénérescence granulo-graisseuse des éléments du tubercule et en la fragmentation puis la dissolution des noyaux. Le centre caséeux présente des formations hématéinophiles qui indiquent le début de la calcification. Les bacilles sont toujours très peu nombreux dans les lésions porcines.

Nous avons coupé des tubercules pulmonaires à divers âges. Les plus récents sont des tubercules de généralisation dans la presque totalité des cas puisque la maladie pulmonaire primitive est exceptionnelle; or on constate, fait qui est également vrai pour le bœuf, qu'au moment où il est possible d'observer les tubercules pulmonaires les plus jeunes, ils sont trop développés pour qu'on puisse reconnaître histologiquement leur origine vasculaire. Dès ce moment, ce sont de petits foyers pneumoniques, ou plus exactement de petits noyaux d'aspect sarcomateux avec épithélioïdisation centrale dont le centre est plus clair que la périphérie, à siège intralobulaire, ne possédant aucun rapport spécial avec les bronches ou les vaisseaux. Au cours de leur développement, ces lésions détruisent par substitution les alvéoles pulmonaires les plus voisins (fig. 18); un peu plus tard, la caséification apparaît avec formation de blocs hématéinophiles.

Les gros tubercules comprennent un ou plusieurs lobules, une masse caséeuse centrale, une portion moyenne épithélioïde avec cellules géantes, une enveloppe fibreuse, embryonnaire dans sa portion interne.

De même que chez le bœuf, des communications s'établissent précocement avec les divisions bronchiques qui, par suite du développement des tubercules, sont nécessairement englobées dans la masse. La tuberculose pulmonaire est donc de très bonne heure ouverte dans les voies aériennes, bien que les lésions soient d'origine sanguine.

Au voisinage des lésions, même récentes, le retentissement

sur les voies lymphatiques est facilement observé ; il y a tout au moins infiltration leucocytaire des cloisons conjonctives intra- ou interlobulaires. Le plus souvent, il existe des amas



FIG. 18. — *Coupe des lésions pulmonaires.*

Cl, cloison conjonctive interlobulaire ; A, alvéoles normaux ; L, fente lymphatique dans une cloison ; T1, gros tubercule pulmonaire dont on n'aperçoit que la portion périphérique ; T2, tubercule plus jeune avec bloc hématéinophile ; T3, tubercule non encore caséeux développé dans les alvéoles ; Tl, tubercule développé dans un vaisseau ou espace lymphatique de la cloison. Grossissement environ 20 D.

de leucocytes dans les capillaires lymphatiques, les espaces conjonctifs et les fentes lymphatiques. Si les lésions pulmonaires sont déjà anciennes de deux mois environ, il y a des tubercules caséeux dans ces voies ou espaces lymphatiques (fig. 18 et 19).

C'est dans l'angle séparant les lobules, sous la plèvre, que l'on peut le mieux observer les lymphangites tuberculeuses : les vaisseaux blancs sont obstrués par des amas leucocytaires au milieu desquels on peut reconnaître des cellules épithélioïdes et géantes, et parfois des parties caséeuses.

Ce sont là les altérations des lymphatiques partant de la

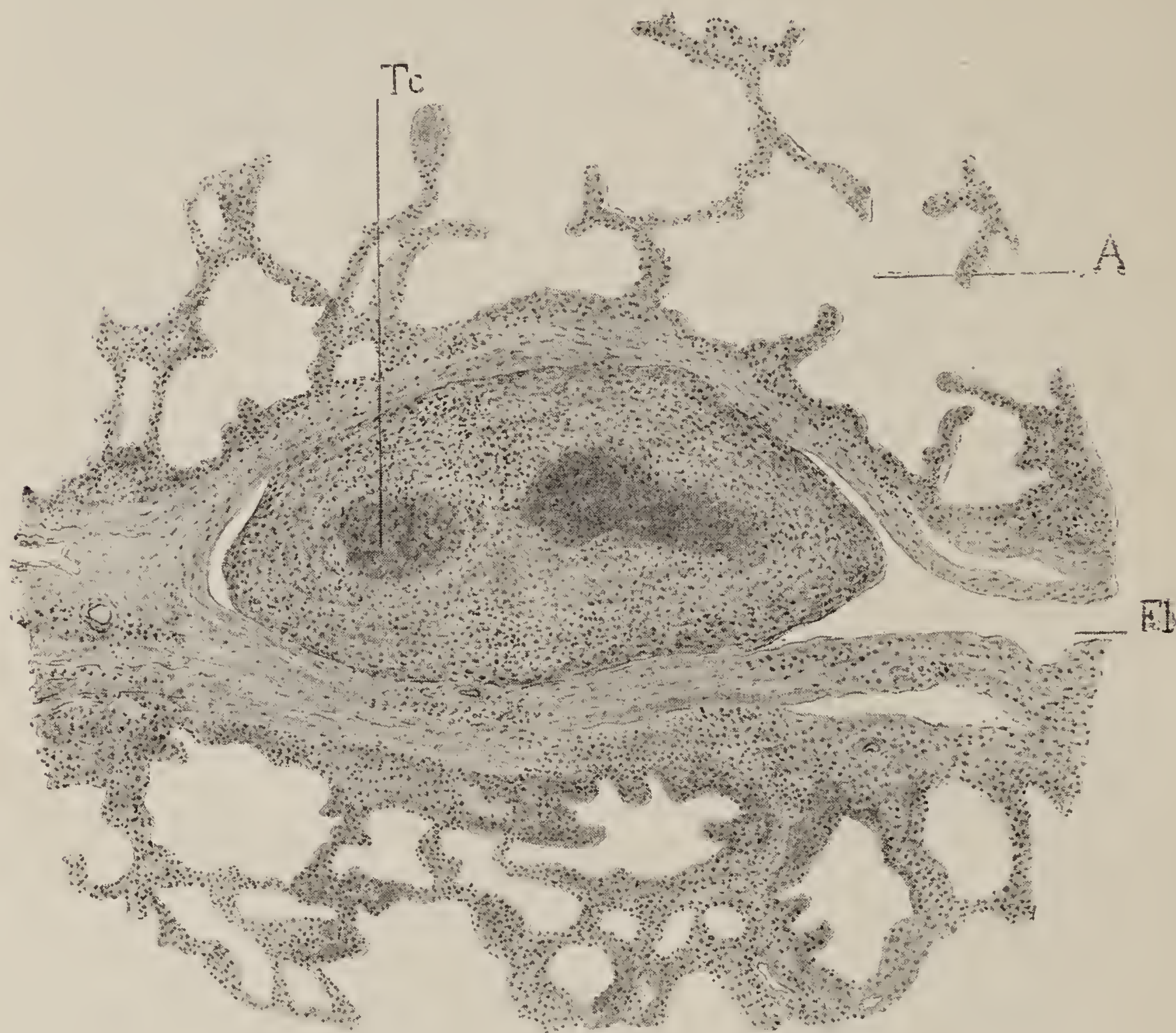


Fig. 19. — *Tubercule caséeux développé dans une fente lymphatique interlobulaire.*

A, alvéoles pulmonaires; Fl, fente lymphatique; Tc, tubercule caséeux. Grossissement environ 60 D.

périphérie du lobule pour se diriger vers la plèvre, et, de là, en cheminant sous la séreuse, vers les ganglions pulmonaires.

Mais il y a d'autres voies lymphatiques qui partent du lobule en longeant les vaisseaux et les bronches pour se terminer également dans les ganglions pulmonaires; ces dernières, étudiées par Pierret et Renaut, sont également touchées par le virus. A proximité des foyers pulmonaires, on remarque, en effet, la formation de tubercules dans les tissus

I L P A Tl L I T Al

Fig. 20. — *Lésions des lymphatiques dans l'angle compris entre la plèvre et deux lobules voisins.*

Al, tissu pulmonaire sain; T, tissu pulmonaire tuberculeux; P, plèvre; A, artère; L, vaisseau lymphatique: I, infiltration leucocytaire dans le tissu conjonctif sous-pleural; Tl, lymphangite tuberculeuse avec obstruction du vaisseau. Grossissement environ 20 D.

V Cl A B Ar T T

Fig. 21. — *Tubercules développés dans le tissu péribronchique intra-lobulaire.*

A, alvéoles; B, bronche; Cl, cloison conjonctive; Ar, artère; V, veine; T, tubercules péribronchiques. Grossissement environ 20 D.

péribronchique et périvasculaire et leur siège ne peut être que dans les capillaires d'origine des vaisseaux ci-dessus (fig. 20 et 21); ces tubercules ne présentent aucun caractère particulier.

Les adénites tuberculeuses porcines n'ont pas de caractères

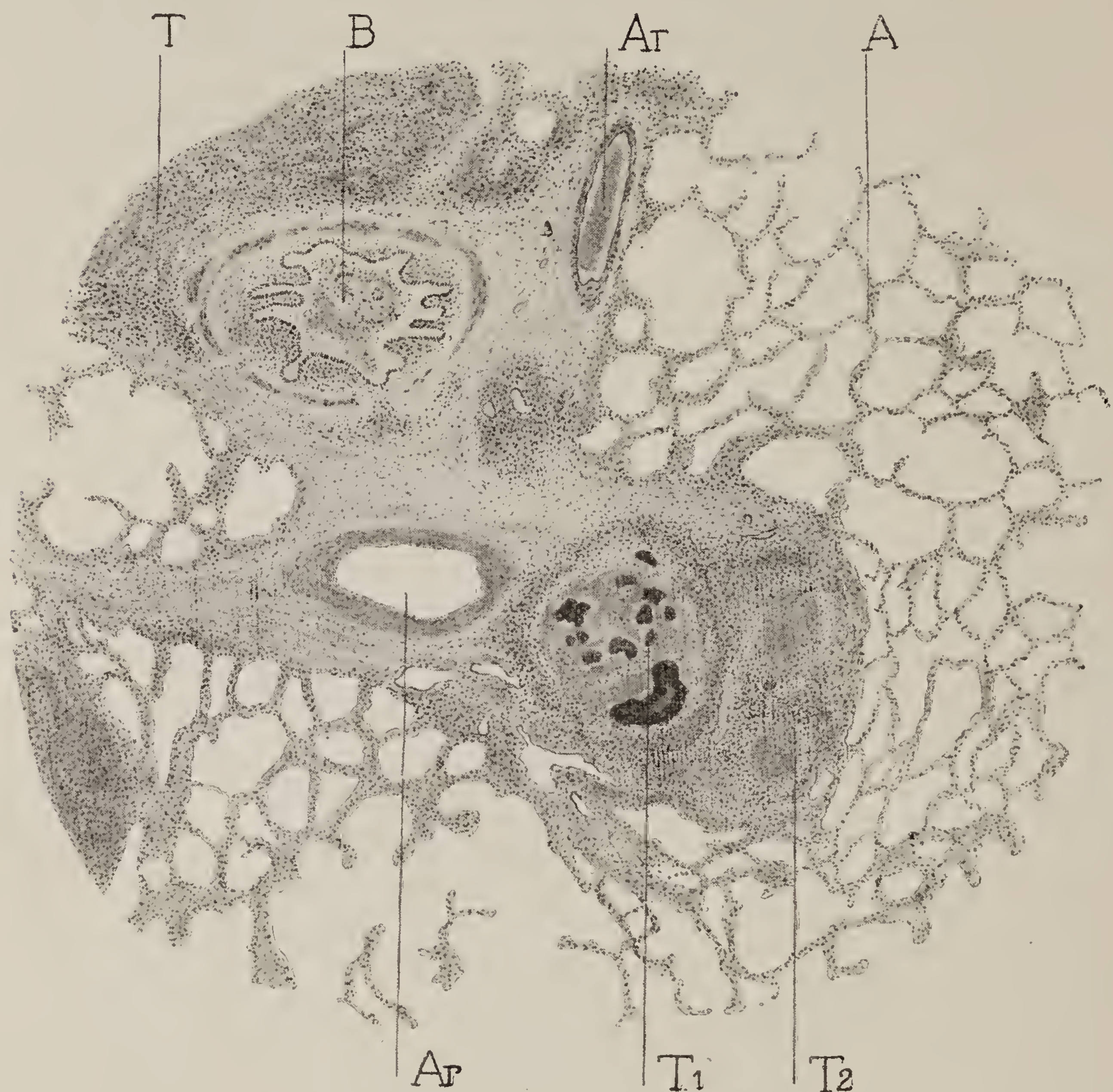


Fig. 22. — *Tubercules développés dans le tissu périvasculaire du lobule.*

T1, tubercule caséeux avec blocs hématéinophiles; T2, tubercule au début de la caséification; T, tissu pulmonaire tuberculeux; Ar, artère; B, bronche. A, alvéoles pulmonaires sains. Grossissement environ 20 D.

spéciaux au point de vue histologique; les lésions débutent par la substance corticale pour envahir ensuite tout l'organe.

La plèvre est inoculée surtout par les lésions pulmonaires superficielles, quelquefois par les lésions ganglionnaires. Le péritoine est inoculé par les tubercules du foie, de la rate, des ganglions mésentériques ou des ganglions iliaques dans le cas de tuberculose de castration, ou encore par continuité avec

la gaine vaginale dans ce dernier cas; dans les cavités séreuses les altérations se propagent par continuité.

* * *

X. — Comparaison de la tuberculose porcine avec celle des autres espèces, spécialement au point de vue pathogénique; conclusions.

Nous avons indiqué, à propos des lésions pulmonaires, les principales différences histologiques qui existent entre la tuberculose porcine et celle du bœuf; nous avons dit également, à propos des lésions des ganglions maxillaires, que la tuberculose porcine ne revêt pas, dans le système lymphatique, le type nodulaire si net dans le plus grand nombre des cas de tuberculose bovine; dans les organes principaux (poumon, foie, rate), les lésions constituent, au contraire, et pendant longtemps, de petites tumeurs sphériques qui sont de véritables tubercules (fig. 14).

Dans la participation des organes et tissus, il existe quelques particularités intéressantes que nous devons signaler. C'est le poumon, le foie et la rate qui traduisent le mieux la généralisation porcine et qui la traduisent simultanément dès que l'infection est quelque peu intense. Il faut noter la rareté des lésions rénales; ces lésions sont également assez rares chez l'homme, le bœuf, le chien, le cobaye, tandis que chez le lapin, au contraire, la généralisation paraît avoir son maximum d'action sur les organes de la dépuration urinaire; c'est chez le porc et le cobaye que le virus tuberculeux a le moins d'affinité pour le rein.

La réceptivité de l'organisme du porc pour le virus tuberculeux nous paraît être la plus grande qui existe : toutes les tuberculoses évoluent dans cette espèce; on n'y trouve pas de lésions enkystées, comme le cas est fréquent chez l'homme et le bœuf; pas de lésions latentes. Relativement rare chez l'homme, rare chez le bœuf, ou tout au moins tardive d'après l'examen macroscopique, la généralisation est la règle chez le porc quelques mois au plus après l'infection. Cette généralisation qui, chez l'homme et le bœuf, donne le plus souvent un

petit nombre de tubercules hépatiques mal développés, qui épargne la plupart des ganglions périphériques, et souvent la rate, les reins et même le foie, frappe simultanément et à un haut degré, dans l'espèce porcine, le poumon, le foie et la rate.

Les lésions ganglionnaires périphériques et les tubercules osseux sont particulièrement fréquents chez les suidés ; si la survie était suffisante, la plupart, sinon la totalité de ces derniers, seraient atteints de fortes et de multiples lésions des corps vertébraux (mal de Pott).

Il faut noter encore ce fait que les ganglions régionaux, pour les principaux organes, répondent constamment à l'infection parenchymateuse ; on ne peut compter pour des faits négatifs ceux dans lesquels les lésions ganglionnaires n'ont pas eu le temps de se former, parce que l'infection parenchymateuse est récente.

Chez le porc il n'y a pas de formes de régression, pas de transformation fibreuse ; or on observe ces formes même chez le cobaye infecté par inhalation de virus humain ; il semble que pour le porc la maladie marche toujours de l'avant. La caséification est très précoce en général ; autour des tubercules pulmonaires on trouve une zone congestive qui témoigne de l'intensité du travail inflammatoire. Lorsqu'il existe de la tuberculose pleurale ou péritonéale, on a l'impression d'une éruption rapide de tubercules caséeux.

Chez le porc, les divers tissus sont plus aptes à la culture du virus que chez les autres animaux, exception faite pour les reins. L'extension des lésions par continuité est parfois remarquable en ce sens, qu'à partir d'un ganglion, par exemple, le tissu conjonctif, puis les tissus glandulaires, musculaire, osseux, sont envahis et deviennent le siège de tubercules nombreux.

Ces diverses constatations concourent à nous démontrer que la sensibilité du porc est la plus grande en face de l'infection ; comme ses tissus réagissent aisément par des altérations visibles, nous dirons aussi que c'est un organisme peu apte à créer des lésions occultes avec des bacilles de virulence normale. Nous croyons même que cette sensibilité spéciale des tissus explique seule les différences qui précèdent : en d'autres

termes que, pour une bacillémie d'intensité donnée, réalisée chez le porc, le chien, le bœuf tuberculeux, le premier répondra par des lésions nombreuses du poumon, du foie et de la rate; les autres résorberont la plus grande partie, sinon la totalité du virus, et ne traduiront l'infection sanguine que par un petit nombre de lésions viscérales. Des expériences sur le cobaye, le lapin et le chien, par injection intraveineuse de bacilles, nous ont montré, en effet, que la plus grande partie des microbes sont détruits chez ces animaux et que c'est le petit nombre qui donne lieu à la formation de tubercules viscéraux; avec de faibles doses, tout est phagocyté chez le lapin et le chien. (*Revue de la tuberculose*, février 1913.)

Que faut-il penser, enfin, du mode d'infection observé chez le porc? Tandis que l'homme, le bœuf, le chien sont habituellement infectés par inhalation, le porc est tuberculisé à peu près exclusivement par la voie amygdalienne et lymphatique cervicale. C'est que les conditions d'apport de la matière infectante, soit avec les aliments, soit avec l'air atmosphérique, sont absolument différentes; dans l'appartement et dans l'étable, il existe une grande quantité de poussières en suspension aérienne qui sont partiellement virulentes lorsqu'un ou plusieurs sujets tuberculeux y séjournent; les porcheries sont, au contraire, des locaux humides, peu poussiéreux, et les animaux sacrifiés jeunes n'ont pas le temps de présenter des tuberculoses pulmonaires susceptibles de contaminer le milieu. Sauf pendant les premiers mois de la vie, la nourriture du bœuf est entièrement végétale, par conséquent non bacillaire; pour l'espèce humaine, cette nourriture est choisie et stérilisée en cas de doute; le porc ingère, au contraire, pendant toute son existence, des laits mélangés, donc plus souvent bacillaires et non stérilisés. Tandis que pour l'homme et le bœuf toutes les conditions sont favorables à l'infection par inhalation, pour le porc elles concourent à la transmission par ingestion; dans l'espèce porcine, la contagion d'un animal à l'autre doit avoir, d'autre part, un rôle à peu près négligeable.

Le porc n'est pas à proprement parler infecté par le tube digestif, car la pénétration a lieu le plus souvent par les amygdales, et vraisemblablement le traumatisme a un grand rôle dans la réussite de l'inoculation; aussi, ne nous semble-t-il pas

possible de donner cet exemple pour prouver l'aptitude de la voie digestive à l'absorption du virus tuberculeux.

Pour que cet argument fût valable, il faudrait encore que les lésions initiales chez l'homme, le bœuf et le porc fussent superposables. Or, tandis que chez les deux premières espèces nous trouvons au début un tubercule pulmonaire caséeux broncho-pneumonique, avec un ganglion caséeux correspondant, nous avons chez le porc une lésion amygdalienne avec un ganglion maxillaire caséeux, et rien au poumon. Nulle identification et nulle conclusion par assimilation ne sont donc possibles : dans la règle, *les poumons humain et bovin sont initialement lésés*, *le poumon du porc est atteint*, *au contraire*, *au moment de la généralisation.*

Mais, au point de vue pathogénique général, une conclusion intéressante doit cependant être tirée de cette comparaison; dans l'un et l'autre cas, nous enregistrons la lésion de pénétration par la surface épithéliale et l'adénopathie régionale corrélative ; il en est de même lors de tuberculose porcine inoculée par la plaie de castration ; d'où il suit que la *tuberculose du porc est bien l'un des meilleurs exemples que l'on puisse donner à l'appui de la loi des réactions locales et lymphatiques* que nous défendons depuis plusieurs années; mais, loin de nous confirmer l'origine digestive habituelle des tuberculoses humaine et bovine, elle l'infirme en ce sens que *des tuberculoses anatomiquement différentes au début ne peuvent avoir été contractées par la même voie.* De plus, la tuberculose porcine ne montre pas que l'intestin est spécialement apte à se laisser pénétrer par le virus, puisque, dans une espèce aussi réceptive et lors d'ingestion virulente, ce sont les amygdales qui sont lésées le plus fréquemment et au maximum, et non pas l'intestin ; la susceptibilité de celui-ci est donc toute relative.

Remarquons, enfin, car nous en avons ici un nouvel et merveilleux exemple, combien les tuberculoses, quel qu'en soit le point de pénétration, sont superposables dans leurs étapes ; à la vérité, la tuberculose par voie bucco-pharyngienne (porc) est pathogéniquement identique à la tuberculose intestinale primitive ; cette dernière ne pénètre-t-elle pas, probablement d'une manière exclusive selon nous, par les plaques de Peyer et les follicules clos isolés, véritables amygdales intestinales?

A notre avis, la raison en est que les mêmes conditions étiologiques passives se trouvent réunies dans le pharynx et l'intestin : cette cause est la stase bacillaire accidentelle dans les cryptes conduisant aux follicules lymphatiques. Un grand nombre de cas de tuberculose gastrique sont eux-mêmes ainsi réalisés, c'est-à-dire qu'ils débutent par les follicules clos de la muqueuse stomacale.

En résumé, *la tuberculose porcine est le type de la tuberculose d'origine bucco-pharyngienne* ; par comparaison, nous dirons que *les tuberculoses humaine et bovine sont généralement des types de tuberculose d'inhalation.* Dans chacune de ces espèces, la proportionnalité des modes d'infection varie avec les conditions d'apport de la matière infectante.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Bongert. — *Rapport au VIII[e] Congrès international de médecine vétérinaire.* Buda-Pesth, 1905.

Borgeaud. — *Progrès vétérinaire*, 1897, n° 4, p. 49.

P. Chaussé. — *La tuberculose de castration chez le porc* (avec bibliographie) ; *Recueil de médecine vétérinaire*, 15 octobre 1910 ; — *Revue pratique des abattoirs*, du 25 février 1912.

Eastwood et Griffith. — *The Lancet*, 2 mai 1914.

Haffner. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1907-1908, p. 7.

Junack. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1906-1907, p. 164.

Langrand. — *Hygiène de la viande et du lait*, 1908, p. 537.

Lungwitz. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1896-1897, p. 217.

Mendoza. — *Revue générale de médecine vétérinaire*, 1906, t. VIII, p. 280.

Mohler et Wasburn. — *The veterinary Journal*, janvier 1908, p. 14.

Moore et Dawson. — *Bureau of animal Industry*, 1897.

Morot. — *Journal de médecine vétérinaire*, 1909.

Moulé. — *Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire*, 1889.

Mullie. — *Annales de médecine vétérinaire*, 1907, p. 358.

Müller. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, mai 1903.

Niel. — *Recueil de médecine vétérinaire*, 15 février 1895.

Nocard. — *Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire*, 1889, p. 456.

Ostertag. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1893, p. 1 ; — *Handbuch der Fleischbeschau*, Berlin, 1902.

Petersen. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, avril 1909, p. 254.

Rieck. — Cité par Ostertag, in *Handbuch der Fleischbeschau*, 1902, p. 646.

Ströse. — *Deutsche tierärztl. Woch.*, 1897, p. 239.

Stubbe. — *Annales de médecine vétérinaire*, 1893.

H. Vallée et P. Chaussé. — *Bulletin de la Société d'études scientifiques sur la tuberculose*, février 1909 ; — *Revue générale de médecine vétérinaire*, 15 février 1909.

Veyssière. — Cité par Strauss dans *La tuberculose et son bacille*, 1895, p. 342.

Villain et Bascou. — *Manuel de l'inspecteur des viandes*, Paris, 1888.

Völkel. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1892-1893, p. 199.

Wilbrandt. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1893-1894, p. 48.

Zchokke. — *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene*, 1896-1897, p. 34.

TxU

TABLE DES MATIÈRES

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

TABLE DES PLANCHES

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.





